

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
28 mars 2002 (28.03.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/24192 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 31/198, 38/05, A61P 25/04

(74) Mandataire : **BECKER, Philippe**; Becker et Associés,
10, rue de Milan, F-75009 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/02973

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZW.

(22) Date de dépôt international :
25 septembre 2001 (25.09.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
00/12164 25 septembre 2000 (25.09.2000) FR

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) :
**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA
RECHERCHE MEDICALE** [FR/FR]; 101, rue de Tol-
biac, F-75654 Paris Cedex 13 (FR). **FORENAP** [FR/FR];
27, rue du 4. RSM, F-68250 Rouffach (FR). **UNIVER-
SITE LOUIS PASTEUR** [FR/FR]; 4, rue Blaise Pascal,
F-67000 Strasbourg (FR).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— *relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US
seulement*

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **BOUR-
GUIGNON, Jean-Jacques** [FR/FR]; 14, rue de Bruhly,
F-67150 Hipsheim (FR). **MACHER, Jean-Paul** [FR/FR];
16, rue de l'Eglise, F-68500 Bergholtz-Zell (FR).
SCHMITT, Martine [FR/FR]; 19, rue Louis Apffel,
F-67000 Strasbourg (FR). **SIMMONET, Guy** [FR/FR];
35, rue Pasteur, F-33200 Bordeaux (FR).

Publiée :

— *avec rapport de recherche internationale*

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.*

(54) Title: DIPEPTIDE LIGANDS OF THE NPFF RECEPTOR FOR TREATING PAIN AND HYPERALGESIA

(54) Titre : LIGANDS DIPEPTIDIQUES DU RECEPTEUR NPFF POUR LE TRAITEMENT DE LA DOULEUR ET DES HY-
PERALGIES

(57) Abstract: The invention concerns compositions and methods for treating or managing pain, for prevention or cure. The inven-
tion is characterised in particular in that it consists in using ligand compounds of the NPFF receptor for treating pain, and methods
and compositions therefor. The invention further concerns novel compounds, ligands of the NPFF receptor, exhibiting advantageous
pharmacological properties for treating pain. The invent is useful for controlling hypersensitivity to pain, chronic or acute, persistent
or temporary, of surgical, traumatic, or pathological origin.

(57) Abrégé : La présente invention concerne des compositions et méthodes pour le traitement ou la prise en charge de la douleur, à
titre préventif ou curatif. L'invention réside notamment dans l'utilisation de composés ligands du récepteur NPFF pour le traitement
de la douleur, ainsi que dans des méthodes et compositions utilisables à cet effet. L'invention décrit en outre des composés nouveaux,
ligands du récepteur NPFF, présentant des propriétés pharmacologiques avantageuses pour le traitement de la douleur. L'invention
est utilisable pour la prise en charge d'hypersensibilités à la douleur, de nature chroniques ou aiguës, persistantes ou temporaires,
d'origine chirurgicale, traumatique, ou pathologique.

WO 02/24192 A1

LIGANDS DIPEPTIDIQUES DU RECEPTEUR NPFF POUR LE TRAITEMENT DE LA DOULEUR ET DES
HYPERALGIES

La présente invention concerne des compositions et méthodes pour le traitement ou la prise en charge de la douleur, à titre préventif ou curatif. L'invention réside
5 notamment dans l'utilisation de composés ligands du récepteur NPFF pour le traitement de la douleur, ainsi que dans des méthodes et compositions utilisables à cet effet. L'invention décrit en outre des composés nouveaux, ligands du récepteur NPFF, présentant des propriétés pharmacologiques avantageuses pour le traitement de la douleur. L'invention est utilisable pour la prise en charge d'hypersensibilités à la douleur, de
10 nature chroniques ou aiguës, persistantes ou temporaires, d'origine chirurgicale, traumatique, ou pathologique.

Malgré les progrès récents de la neurophysiologie et de la neuropharmacologie, le traitement de la douleur s'avère souvent insuffisant. Parmi les agents thérapeutiques utilisés pour prendre en charge les douleurs intenses, qu'elles soient aiguës ou chroniques,
15 les analgésiques opiacés, notamment la morphine et les morphinomimétiques (fentanyl, sufentanil, etc.) représentent la classe pharmacologique la plus utilisée en raison de la grande efficacité de ces médicaments. Cependant, cette efficacité est parfois limitée en raison d'une « résistance » partielle ou totale de certaines douleurs à leurs effets analgésiques. C'est le cas de certaines douleurs neurogènes (douleurs liées à des lésions
20 nerveuses périphériques ou centrales) ou de douleurs post-opératoires en raison d'une sensibilisation persistante à la douleur se traduisant sur le plan clinique par l'apparition d'hyperalgies, d'allodynies ou de douleurs spontanées pouvant durer ou réapparaître très longtemps après l'acte chirurgical. D'autre part, l'emploi thérapeutique de ces substances s'accompagne d'effets indésirables, tels que dépression respiratoire, ralentissement du
25 péristaltisme intestinal, etc., et également d'un processus de tolérance se traduisant par une diminution de l'effet analgésique.

Il existe donc un besoin réel pour des composés et des stratégies thérapeutiques capables de prévenir les processus de sensibilisation à la douleur et de la résistance aux analgésiques opiacés. La prévention et le traitement de ces deux processus pourraient être
30 d'autant plus importants que l'administration d'analgésiques induit elle-même une sensibilisation à la douleur de longue durée chez l'animal (Célérier et al., 2000).

Ces éléments suggèrent donc qu'à la suite d'un traitement par des analgésiques opiacés (de type morphino-mimétiques), tel que l'on peut le rencontrer à l'occasion

d'actes chirurgicaux, un patient pourrait être particulièrement sensible à la douleur en période post-chirurgicale, non seulement en raison des agressions tissulaires liées à l'acte chirurgical, mais également en raison d'une sensibilité exacerbée à la douleur, induite par le traitement analgésique.

5

La présente invention propose à présent de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement préventif ou curatif de la douleur, en particulier de sensibilités accrues à la douleur, notamment de sensibilités consécutives à la prise de composés analgésiques tels que les opiacés.

10

La présente invention repose notamment sur l'utilisation de ligands du récepteur au neuropeptide FF (« NPFF ») pour inhiber les phénomènes de sensibilisation à la douleur. Les inventeurs ont en effet montré que, de manière surprenante, de tels composés étaient capables d'inhiber efficacement et de manière durable l'apparition d'hyperalgies consécutives à la prise d'analgésiques opiacés. Les résultats observés montrent que

15 différents ligands synthétiques du récepteur NPFF possèdent cette propriété, et peuvent être utilisés pour la prise en charge des hyperalgies induites par différents analgésiques, notamment la morphine ou les morphino-mimétiques.

Un objet de l'invention réside donc dans l'utilisation d'un ligand synthétique du

20 récepteur NPFF pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à inhiber l'hyperalgie induite par les composés analgésiques opiacés.

L'invention concerne également des compositions, notamment des compositions pharmaceutiques, solutés, produits d'anesthésie, comprenant un composé analgésique

25 opiacé et un ligand synthétique du récepteur NPFF.

L'invention concerne aussi des méthodes de traitement de l'hyperalgie comprenant l'administration à un sujet (notamment humain) de ligands synthétiques du récepteur NPFF, de préférence d'antagonistes du récepteur NPFF. L'invention est

30 particulièrement destinée à l'inhibition de l'hyperalgie induite par les analgésiques opiacés, et comprend avantageusement l'administration de ligands synthétiques du récepteur NPFF, de préférence d'antagonistes du récepteur NPFF, de manière préalable, concomitante ou postérieure à la prise de l'analgésique.

L'invention concerne également de nouveaux ligands synthétiques du récepteur NPFF, utilisables dans la mise en œuvre des méthodes, utilisations et compositions selon l'invention et, plus généralement, dans le traitement ou la prise en charge de la douleur.

- 5 Les ligands synthétiques sont plus particulièrement des dérivés chimiques de la région C-terminale du neuropeptide FF.

L'invention est utilisable pour la prise en charge d'hypersensibilités à la douleur, de nature chronique ou aiguë, persistante ou temporaire, d'origine chirurgicale, traumatique, ou pathologique, chez l'être humain comme chez d'autres espèces
10 mammifères.

Comme indiqué, l'invention repose, de manière générale, sur l'utilisation de ligands du récepteur NPFF pour le traitement des hyperalgies.

- 15 Le NPFF semble être un peptide antioïdique (pour revue, voir Simonnet 1997). Le NPFF peut être considéré comme un neurotransmetteur (Devillers et al ;1995a), capable de s'opposer aux effets analgésiques de la morphine (Yang et al., 1985, Oberling et al., 1993), et d'être libéré au niveau du système nerveux central à la suite de l'administration de morphine chez le rat (Devillers et al.1995b). Sur le plan pharmacologique, il a déjà été
20 rapporté par les inventeurs que certaines molécules de synthèse possédant la séquence terminale du NPFF étaient capables de potentialiser les effets analgésiques de la morphine (Bourguignon et al., 1997). Cependant, aucun résultat antérieur ne décrit d'approche pour le traitement des hyper-sensibilisations à la douleur utilisant le récepteur NPFF.

Les inventeurs ont maintenant démontré que, de manière inattendue, des
25 composés ligands des récepteurs du NPFF étaient capables de prévenir l'hypersensibilité à la douleur de plusieurs jours apparaissant à la suite de l'administration de Fentanyl ou d'héroïne. Il s'agit, à notre connaissance, de la première mise en évidence qu'un ligand des récepteurs NPFF prévient les effets hyperalgiques (de longue durée) induits par l'administration d'analgésiques opiacés.

- 30 Le mécanisme d'action pouvant rendre d'un tel effet pharmacologique d'aussi longue durée est encore inconnu dans la mesure où une seule administration de RF2 ou de RF3 (ligands synthétiques du récepteur NPFF), juste avant le Fentanyl ou l'héroïne, ne permettait pas d'envisager des effets aussi durables. Ce résultat inattendu ne pouvait être

envisagé sur la base des données déjà rapportées (Bourguignon et al., 1997) et ouvre une voie d'intérêt pharmacologique très particulière. Il est en effet peu probable qu'un dipeptide (même modifié) comme le RF2 ou le RF3, rapidement dégradable *in vivo* comme tout peptide, puisse agir pendant plusieurs jours pour s'opposer à l'effet d'une possible libération de NPFF (non démontrée dans son caractère durable à la suite d'une
5 seule administration d'analgésique opiacé) à la suite de l'administration de Fentanyl ou d'héroïne. Il s'agit donc également à notre connaissance de la première mise en évidence qu'un antagoniste des récepteurs d'un peptide antiopioïde prévient à long terme (jours) les effets hyperalgiques de longue durée induits par l'administration d'analgésiques
10 opiacés. Notre hypothèse, qui reste à vérifier, est que le système NPFF exercerait un rôle permissif sur l'expression des systèmes facilitateurs de la nociception induite par l'administration d'un analgésique opiacé.

L'invention propose donc une nouvelle approche thérapeutique pour la prise en
15 charge préventive ou curative des hyperalgies.

Le terme « hyperalgie » désigne au sens de l'invention tout état de sensibilisation accrue à la douleur, notamment toute hyper-sensibilisation à la douleur ainsi que la perception d'une douleur en réponse à un stimulus perçu comme non douloureux en temps normal (allodynie). Il peut s'agir d'hyperalgies prolongées, brèves, importantes ou
20 modérées. La détection, la mesure et la caractérisation de la présence d'une hyperalgie peuvent être réalisées par des tests cliniques classiques (observation, etc.). D'une manière générale, il semble que l'administration d'analgésiques opiacés à des sujets mammifères s'accompagne toujours d'une hyperalgie, de sorte que l'invention peut être utilisée chaque fois qu'un analgésique opiacé est administré à un sujet.

25

Au sens de la présente invention, le terme « inhiber » signifie réduire ou supprimer, de manière partielle ou totale, transitoire ou prolongée. La capacité à inhiber l'hyperalgie et le degré de cette inhibition peuvent être déterminés selon différents tests connus de l'homme du métier. Par ailleurs, le terme inhiber désigne aussi bien l'inhibition
30 de l'apparition (par exemple pour un traitement préventif) que l'inhibition du développement ou de la durée (pour un traitement curatif) de l'hyperalgie.

Préférentiellement, on utilise dans le cadre de la présente invention des ligands synthétiques ayant la capacité d'inhiber de 30% au moins, plus préférentielement de 50% au moins, encore plus préférentiellement de 80% au moins, l'hyperalgie induite par les composés analgésiques opiacés.

- 5 Dans un mode particulier, l'invention réside dans l'utilisation de ligands synthétiques du récepteur NPFF pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à inhiber à long terme (de préférence sur 1 jour, plus préférentiellement sur 1 à 3 jours) l'hyperalgie induite par les composés analgésiques opiacés.

10 Les Ligands Synthétiques

- Le terme ligand synthétique désigne au sens de l'invention tout composé capable de lier le récepteur NPFF, différent du ligand endogène (c'est-à-dire du NPFF). Il s'agit donc généralement de composés obtenus par synthèse, qu'il s'agisse d'une synthèse
- 15 chimique, biologique, génétique, enzymatique, etc., ou d'une combinaison de ces voies d'obtention. Les ligands synthétiques selon l'invention sont préférentiellement sélectifs du récepteur NPFF, c'est-à-dire présentent une affinité plus élevée pour le récepteur NPFF que pour d'autres récepteurs de neurotransmetteurs. Des ligands encore plus préférés sont des antagonistes du NPFF. Cependant, comme il sera démontré dans la suite
- 20 du texte, des ligands synthétiques selon l'invention peuvent présenter une activité vis-à-vis de récepteurs différents, notamment une dualité d'action, c'est-à-dire une affinité importante pour le récepteur NPFF et également pour un (ou plusieurs) autre(s) type(s) de récepteur(s). Ainsi, l'invention décrit des composés ayant une affinité importante pour le récepteur NPFF et également pour un récepteur opioïde (de type mu). Un tel profil
- 25 d'action est avantageux dans la mesure où de tels composés peuvent présenter par eux mêmes un effet analgésique.

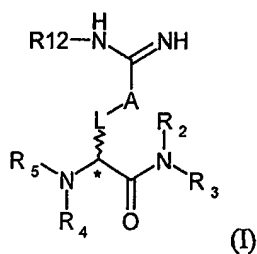
- Des ligands particuliers au sens de l'invention sont des composés de nature peptidique, dérivés de la structure du neuropeptide FF. En particulier, des ligands
- 30 synthétiques selon l'invention sont des dérivés peptidiques comprenant une partie de la région C-terminale du neuropeptide FF, de préférence les acides aminés C-terminaux Arg-Phe, sur laquelle différentes modifications structurales peuvent être introduites. Les résultats présentés dans les exemples montrent ainsi que des composés dérivés du di-

peptide Arg-Phe possèdent la faculté de lier le récepteur NPFF et d'inhiber l'hyperalgie induite par les analgésiques. Des exemples spécifiques de tels composés sont notamment les composés RF2 (Chlorhydrate de N^α-Benzoyl L-Arginine-L-Phe-NH₂) et RF3.

- 5 Par ailleurs, la présente demande décrit également la mise au point, la synthèse et la caractérisation de nouveaux composés, ligands du récepteur NPFF, utilisables pour les applications mentionnées ci-avant. Ainsi, la présente invention a également pour objet des composés de formule générale (I) telle que définie ci-après. L'invention concerne aussi des compositions, notamment pharmaceutiques, comprenant un composé de formule
- 10 générale (I) et un véhicule acceptable pharmaceutiquement. Les composés peuvent être sous forme de sels, sous forme racémique, ou d'énantiomères isolés ou mélangés. L'invention concerne en outre l'utilisation de composés de formule (I) pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées au traitement de la douleur ou de l'hyperalgie. L'invention concerne également des méthodes de traitement de la douleur
- 15 ou de l'hyperalgie comprenant l'administration à un sujet d'un composé de formule générale (I).

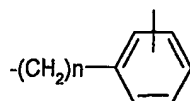
Les composés selon l'invention répondent donc préférentiellement à la formule générale (I), sous forme L, D ou L/D,

20



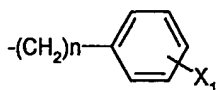
dans laquelle :

- 25 . -L- représente soit (CH₂)_m, m pouvant représenter 2, 3 ou 4 ; soit un groupe de formule



dans laquelle n vaut 0 ou 1 ;

. A est un atome de soufre ou un groupe NR_1 dans lequel R_1 représente un atome d'hydrogène, un groupe méthyle ou un groupe



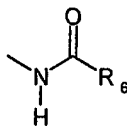
5

dans lequel n vaut 0 ou 1 et X_1 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement hydroxyle, carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino ;

10 . R_2 et R_{12} , indépendamment l'un de l'autre, représentent un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle ou aralkyle,

. R_3 est (i) soit un groupe $-(\text{CH}_2)_p-\text{W}$ dans lequel p vaut 1, 3 ou 6 et W est choisi parmi

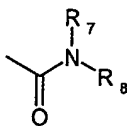
- un atome d'hydrogène,
- un groupe



15

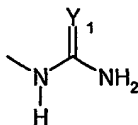
dans lequel R_6 est un groupement alkyle, aryle ou aralkyle,

- un groupe



20 dans lequel R_7 est un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle et R_8 est un atome d'hydrogène, un alkyle ou un aralkyle,

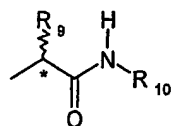
- un groupe $-\text{OH}$ ou $-\text{OMe}$,
- un groupe



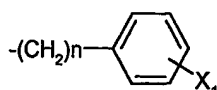
25 dans lequel Y est un atome d'oxygène ou de soufre, ou

- un groupe phényle, phényle substitué ou hétéroaryle,

(ii) soit un groupe



en conformation L, D ou L/D, dans lequel R₉ est un groupe alkyle ou un groupe



5

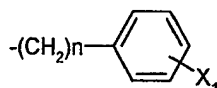
avec n ayant une valeur de 0 ou 1 et X₁ étant tel que défini ci-avant, et R₁₀ est un atome d'hydrogène, un alkyle ou un aralkyle ;

(iii) soit un groupe arylcycloalkyle, éventuellement substitué,

10

(iv) soit R₂ et R₃ forment ensemble un cycle ayant de 3 à 9 atomes de carbone, saturé ou insaturé, éventuellement aromatique, et comportant éventuellement un maillon NR₁₁, R₁₁ étant un groupement alkyle, aryle ou aralkyle ;

15 . R₄ représente un atome d'hydrogène, un groupement méthyle ou un groupe



dans lequel n vaut 0 ou 1 et X₁ est tel que défini ci-avant, et

20 . R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr ou -SO₂(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1 ou 2 et Ar comprend un groupement aromatique, substitué ou non, comprenant avantageusement de 4 à 15 maillons dont 0 à 4 hétéroatomes ou R₅ est un groupe de formule -CO-R₁₃ dans laquelle R₁₃ est un groupe (C₁-C₆)alkyle ou (C₃-C₁₂)cycloalkyle, éventuellement substitué.

25 Selon l'invention, le terme "alkyle" désigne un radical hydrocarboné linéaire ou ramifié ayant de 1 à 6 atomes de carbone tels que méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, *tert*-butyle, pentyle, néopentyle, n-hexyle. Les groupes en C₁-C₄ sont préférés.

Des exemples de cycloalkyle sont notamment cyclopropyle, cyclopentyle, cyclohexyle et adamantyle.

Les groupes "aryle" sont des systèmes hydrocarbonés aromatiques mono ou bicycliques ayant de 6 à 12 atomes de carbone. Les groupes hétéroaryles sont des groupes aryles
5 comportant un ou plusieurs hétéroatomes cycliques, de préférence 1 à 4 hétéroatomes cycliques.

Un groupement aromatique est typiquement un groupe comprenant de 4 à 15 maillons dont 0 à 4 hétéroatomes, préférentiellement de 4 à 12 maillons dont 0 à 3 hétéroatomes.

Un groupement aromatique peut être mono- ou multi-cyclique. En outre, un groupe
10 aromatique peut comprendre un ou plusieurs cycles aromatiques condensés à un cycle non-aromatique.

Le terme « aralkyle » (ou « arylalkyle ») désigne un groupe aryle tel que défini ci-dessus relié au noyau de la molécule par un groupe alkyle tel que défini ci-dessus.

Le terme « arylcycloalkyle » désigne un groupe aryle tel que défini ci-dessus relié à la
15 molécule par un groupe cycloalkyle tel que défini ci-dessus, en particulier sous forme condensée, tel que par exemple le groupe tétraline.

Le terme « acyle » désigne un groupe alkyle, aryle ou hétéroaryle tels que définis ci-dessus, relié au noyau de la molécule par un groupe -CO-.

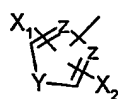
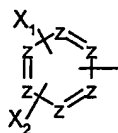
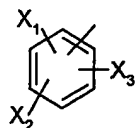
Les groupes alkoxy correspondent aux groupes alkyle définis ci-dessus reliés au noyau
20 par l'intermédiaire d'une liaison -O- (éther).

Par "halogène", on entend un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'iode.

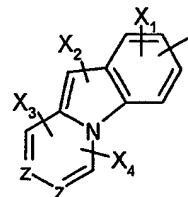
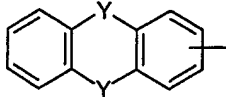
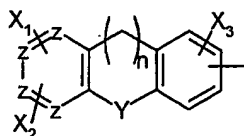
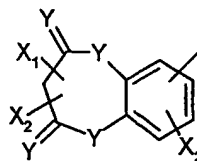
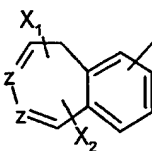
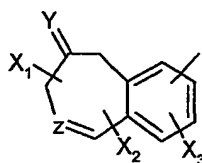
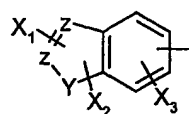
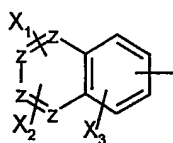
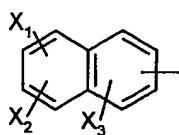
Par « hétéroatome » on entend un atome choisi parmi O, N et S.

Par ailleurs, les groupes ci-dessus peuvent porter un ou des substituants choisis par
25 exemple parmi halogène, nitro, cyano, carboxy, (C₁-C₆)-alkoxycarbonyle, mono- ou di-(C₁-C₆)-alkylaminocarbonyle, aminocarbonyle, mono- ou di-(C₆-C₁₂)-aryl- ou hétéro-(C₆-C₁₂)-arylaminocarbonyle, mono- ou di-(C₆-C₁₂)-aryl- ou hétéro-(C₆-C₁₂)-aryl-(C₁-C₆)-alkylaminocarbonyle, hydroxy, (C₁-C₆)-alkoxy, (C₁-C₆)-alkyle, amino éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis parmi (C₁-C₆)-alkyle, (C₁-C₆)-alkylcarbonyle, (C₃-C₈)-cycloalkyle, (C₆-C₁₂)-aryle, hétéro-(C₆-C₁₂)-aryle, (C₆-C₁₂)-aryl-(C₁-C₆)-alkyle, hétéro-(C₆-C₁₂)-aryl-(C₁-C₆)-alkyle, (C₁-C₇)-alcanoyle, cyclo-(C₃-C₈)-alcanoyle, (C₆-C₁₂)-aroyle, ou (C₆-C₁₂)-aryl-(C₁-C₇)-alcanoyle.
30

Des composés particuliers au sens de l'invention sont ceux de formule (I) dans lesquels Ar représente un groupe aromatique choisi parmi les groupements cycliques à 1, 2 ou 3 noyaux cycliques condensés suivants :

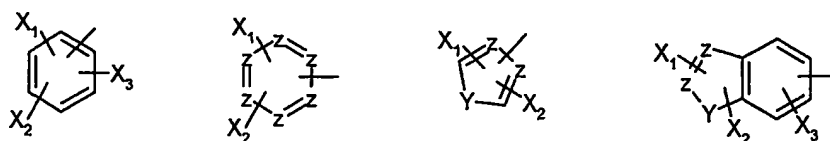


5



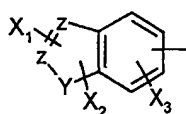
dans lesquels Z est un groupe CX₅ ou un atome d'azote, étant entendu que pour un même cycle, Z ne peut prendre plus de trois fois la signification azote, Y est un atome de soufre ou d'oxygène ou un groupe NX₅, n vaut 0, 1 ou 2, X₁, X₂, X₃, X₄ et X₅, identiques ou différents, étant choisis parmi un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, ou un groupement carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino.

De manière préférée, dans les composés de l'invention R₄ est un atome d'hydrogène et R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1 ou 2, de préférence 0 ou 1, et Ar comprend un groupement aromatique, substitué ou non, comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes. Encore plus préférentiellement, R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1 ou 2 et Ar représente un groupement aromatique choisi parmi



- dans lesquels Z est un groupe CX₅ ou un atome d'azote, étant entendu que pour un même cycle, Z ne peut prendre plus de trois fois la signification azote, Y est un atome de soufre ou d'oxygène ou un groupe NX₅, n vaut 0, 1 ou 2, X₁, X₂, X₃ et X₅, identiques ou différents, étant choisis parmi un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, ou un groupement carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino.

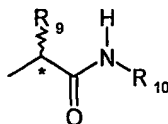
- Des exemples spécifiques et préférés de mise en œuvre sont les composés dans lesquels R₅ est un groupe benzoyle substitué, ou un groupe indol-2-carbonyle, éventuellement substitué. Des composés préférés sont donc ceux de formule (I) dans laquelle R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1 ou 2, de préférence 0, et Ar représente un groupement aromatique :



dans lequel X₁, X₂, X₃, Y et Z sont tels que définis ci-avant.

15

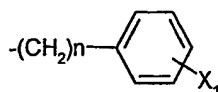
D'autre part, dans la formule générale (I), on préfère les composés dans lesquels R₃ est un groupe



en conformation L, D ou L/D, dans lequel

20

. R₉ est un groupe



dans lequel n est 1 et X₁ est tel que défini précédemment, et

. R_{10} est un atome d'hydrogène, un alkyle ou un aralkyle, de préférence un atome d'hydrogène.

Des composés préférés de formule générale (I) ci-dessus sont également des composés dans lesquels :

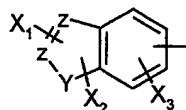
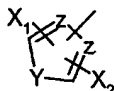
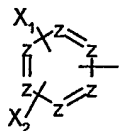
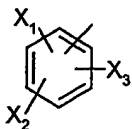
- R_2 est un atome d'hydrogène, et/ou
- R_{12} est un atome d'hydrogène, et/ou
- L est $-(CH_2)_3-$, et/ou
- A est le groupe NH.

10

Une famille préférée de composés est représentée par les composés de formule (I) dans laquelle

. R_4 est un atome d'hydrogène,

15 . R_5 est un groupe de formule $-\text{CO}(\text{CH}_2)_q\text{Ar}$ dans lequel q vaut 0, 1 ou 2 et Ar représente un groupement aromatique choisi parmi

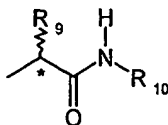


20 dans lesquels Z est un groupe CX₅ ou un atome d'azote, étant entendu que pour un même cycle, Z ne peut prendre plus de trois fois la signification azote, Y est un atome de soufre ou d'oxygène ou un groupe NX₅, n vaut 0, 1 ou 2, X₁, X₂, X₃ et X₅, identiques ou différents, étant choisis parmi un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, ou un groupement carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino.

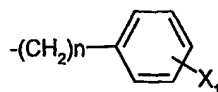
. R_2 est un atome d'hydrogène,

. R_{12} est un atome d'hydrogène,

25 . R_3 est un groupe



en conformation L, D ou L/D, dans lequel R₉ est un groupe



dans lequel n est 1 et X_1 est tel que défini dans la revendication 1, et R_{10} est un atome d'hydrogène

. L est $-(CH_2)_3-$, et

5 . A est le groupe NH.

Les composés selon l'invention sont particulièrement avantageux dans la mesure où ils possèdent une affinité significative pour le récepteur NPFF, et sont capables de moduler la réponse à la douleur. De manière inattendue, les composés de l'invention possèdent également une affinité pour d'autres récepteurs, notamment le récepteur opioïde Mu. Ainsi, les exemples présentés montrent notamment que, de manière inattendue, la présence d'un groupe indole en position R5 permet d'augmenter d'un facteur 10 l'affinité des composés pour le récepteur Mu. Les composés de l'invention possèdent en outre des propriétés pharmacologiques améliorées. Ainsi, la présence du group R1 ou d'un atome de soufre permet d'abaisser la basicité du groupe guanidine et ainsi d'améliorer la pénétration des composés et leur biodisponibilité. Les propriétés biologiques, physiques et pharmacologiques des composés confèrent à ces molécules des avantages importants et des applications nouvelles, comme décrit dans la présente demande.

20 Des composés préférés au sens de l'invention sont décrits dans les exemples, notamment les composés 4, 7, 13, 18, 24-45.

Des composés particulièrement préférés sont les composés suivants :

Acétate de N^α -Benzoyl-L-Arg-Atc-NH₂

25 Acétate de N^α -Adamantan-1-yl-L-Arg-L-Phe-NH₂

Acétate de N^α -Benzoyl-L-Arg-D-Phe-NH₂

Chlorhydrate de N^α -[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arg-L-Phe-NH₂

Chlorhydrate de N^α -(4-chloro-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH₂

Chlorhydrate de N^α -(4-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D-Phe-NH₂

30 Chlorhydrate de N^α -(3-chloro-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH₂

Chlorhydrate de N^α -(3-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D-Phe-NH₂

Chlorhydrate de N^α-(3,4-dichloro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH₂

Chlorhydrate de N^α-(2-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH₂

Trifluoroacétate de N^α-(4-acétylaminobutanoyl)-L-Arginine-N-phénéthylamide

Trifluoroacétate de N-(3-bromo-benzoyl)-L-arginine-N-phénéthylamide

5 Trifluoroacétate de N^α-[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arg-D-Phe-NH₂

Trifluoroacétate de N^α diphénylacetyl N^γ benzyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide

Les composés de formule (I) peuvent être préparés selon les techniques connues de l'homme du métier. La présente invention décrit à cet égard différentes voies de
10 synthèse, qui sont illustrées sur les figures 4-8 et peuvent être mises en œuvre par l'homme du métier, comme indiqué dans les exemples. Les composés de départ peuvent être obtenus dans le commerce ou synthétisés selon des procédés habituels. Il est entendu que la présente demande n'est pas limitée à une voie de synthèse particulière, et s'étend à d'autres procédés permettant la production des composés indiqués.

15

Les composés analgésiques

Les composés analgésiques utilisés dans le cadre de la présente invention sont généralement des composés opiacés, c'est-à-dire des composés agissant sur les récepteurs
20 opoïdes. Il s'agit, de manière préférée, de composés morphiniques, notamment de la morphine ou de morphino-mimétiques, c'est-à-dire de composés dérivés de la morphine et/ou agissant sur un ou des récepteurs de la morphine et/ou recrutant une ou des voies métaboliques communes avec la morphine. A titre d'exemples particuliers, on peut citer notamment les composés suivants : morphine, fentanyl, sufentanil, alfentanil, héroïne,
25 hydromorphone, levorphanol, methadone, buprenorphine, butorphanol, meperidine, etc.

L'invention est tout particulièrement adaptée pour inhiber l'hyperalgie induite par la morphine, le fentanyl ou l'héroïne.

30 Les ligands ou compositions selon l'invention peuvent être administrés de différentes manières et sous différentes formes. Ainsi, ils peuvent être injectés par voie systémique ou orale, de préférence systémique, comme par exemple par voie

intraveineuse, intra-musculaire, sous-cutanée, trans-dermique, intra-artérielle, etc, les voies intraveineuse, intra-musculaire et sous-cutanée étant préférées. Pour les injections, les composés sont généralement conditionnés sous forme de suspensions liquides, qui peuvent être injectées au moyen de seringues ou de perfusions, par exemple. A cet égard, 5 les composés sont généralement dissous dans des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Ainsi, les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, stabilisants, conservateurs, etc. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations liquides et/ou injectables sont 10 notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, l'acacia, etc.

Selon une variante particulière, le ligand selon l'invention est administré par la même voie que le composé analgésique, par exemple sous forme de perfusion.

Les composés peuvent également être administrés sous forme de gels, huiles, 15 comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

20 Il est entendu que le débit et/ou la dose injectée peuvent être adaptés par l'homme du métier en fonction du patient, de la douleur observée, de l'analgésique concerné, du mode d'administration, etc. Typiquement, les composés sont administrés à des doses pouvant varier entre 0.1 µg et 10 mg µg/kg de poids corporel, plus généralement de 1 à 1000 µg/kg. En outre, des injections répétées peuvent être réalisées, le cas échéant. Les 25 résultats présentés dans les exemples indiquent néanmoins que des injections répétées ne sont pas nécessaires dans de nombreux cas pour obtenir une inhibition importante de l'hyperalgie.

D'autre part, pour des traitements chroniques, des systèmes retard ou prolongés 30 peuvent être avantageux, assurant au sujet une prise en charge efficace et durable de la douleur.

La présente invention peut être utilisée pour la prise en charge préventive ou curative des hyperalgies dans de multiples situations, telles que survenant ou associées à des traitements aigus, chroniques, d'origine chirurgicale, traumatique ou pathologique. Elle est applicable à tout mammifère, notamment l'être humain, mais également aux animaux, notamment domestiques ou d'élevages, en particulier les chevaux, chiens, etc.

Elle est particulièrement adaptée à la prévention ou au traitement des processus de sensibilisation induits par l'administration ponctuelle d'analgésiques opiacés, comme les morphinomimétiques puissants (par exemple la morphine ou le Fentanyl ou leurs dérivés), réalisée à l'occasion d'actes chirurgicaux ou de traumatisme.

Elle est également utilisable pour la prévention ou le traitement de douleurs chroniques chez des patients atteints de pathologies telles que le cancer, les brûlures, etc., pour lesquels des analgésiques (tels la morphine) peuvent être administrés de façon durable, éventuellement sous forme retard.

Les ligands des récepteurs du NPFF peuvent également être utilisés pour prévenir ou réduire, de façon très significative, les processus de tolérance permettant ainsi de réduire les doses quotidiennes de morphine améliorant par là même le tableau clinique des patients (effets secondaires des morphinomimétiques tels, par exemple, que les troubles intestinaux).

Les composés selon l'invention présentent en outre l'avantage d'une meilleure « maniabilité » sur le plan thérapeutique (moins d'effets secondaires) que les antagonistes des récepteurs NMDA, capables également de prévenir l'hyperalgie induite par les analgésiques opiacés, dans la mesure où leurs cibles dans le système nerveux central sont beaucoup plus limitées que celle des récepteurs NMDA (voir cartographie des récepteurs NPFF dans Allard et al., 1992).

Les composés de formule (I) selon l'invention peuvent également être utilisés pour le traitement ou la prise en charge, préventive ou curative, de la douleur.

D'autres aspects et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

30

Légende des Figures

Figure 1 : Evolution de la valeur du seuil nociceptif évaluée par le test de Randall-Sellitto (évocation du cri de l'animal en réponse à un stimulus nociceptif mécanique, *i.e* pression exercée sur une patte, exprimé en grammes chez des rats recevant du sérum physiologique (groupe NaCl) ou RF₂. Chaque groupe expérimental est formé de 10 animaux. Les valeurs du seuil nociceptif sont représentées en moyenne +/-SEM. L'analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs n'indique ni effet temps, ni effet groupe.

Figure 2 : L'administration de RF₂ (5mg/kg) potentialise l'effet analgésique du Fentanyl et prévient l'hyperalgie de longue durée induite par l'administration de Fentanyl.

Figure 3 : L'administration de RF₃ (5mg/kg) potentialise l'effet analgésique du Fentanyl et prévient l'hyperalgie de longue durée induite par l'administration de Fentanyl.

Figure 4 : Voie de synthèse (1) des ligands synthétiques au départ de N^α-*tert*-Butyloxycarbonyl-N^ω-Nitro-L-Arginine 1.

Figure 5 : Voie de synthèse (2) des ligands synthétiques au départ de N^α-*tert*-butyloxycarbonyl- L- Arginine 5.

Figure 6 : Voie de synthèse (3) des ligands synthétiques au départ de N^{α,ω}-bis-Benzyloxycarbonyl-L-Ornithine 8.

Figure 7 : Voie de synthèse (4) des ligands synthétiques au départ du N^α-*tert*-Butyloxycarbonyl-N^α-Méthyl-N^{ω,ω3}-bis-Benzyloxycarbonyl- L-Arginine 15 (Xue et al, Tetrahedron Letters 1995,1,55-58).

Figure 8 : Voie de synthèse (5) des ligands synthétiques au départ de N^α-*tert*-Butoxy-3-Nitro-L-Phénylglycine 19 (Lee et al, Bioorg ; Med. Chem. ; EN ; 7 ;6 ;1999 ;1097-1104).

Figure 9 : Voie de synthèse (6) des ligands synthétiques.

Figure 10 : Voie de synthèse (7) des ligands synthétiques.

Figure 11 : Effets de longue durée du RF₂ sur la potentialisation par le fentanyl de l'hyperalgésie induite par une douleur de type inflammatoire

A – PROPRIETES ANTI-HYPERALGIQUES IN VIVO DE LIGANDS DU RECEPTEUR NPFF

Matériels et Méthodes

1. Produits utilisés

Le Fentanyl et la Naloxone proviennent de Sigma-Aldrich (Saint Quentin
5 Fallavier, France). Les composés RF2 et RF3 sont des analogues dipeptidiques de
l'extrémité carboxylique (Arg-Phe-NH₂) du NPFF sur laquelle a été greffé un
groupement phényle. Tous ces molécules ont été dissoutes dans une solution saline
physiologique (0,9%) et administrées par voie sous-cutanée (100 µl/100 g de poids
corporel). Les sujets contrôle ont reçu un volume égal de solution saline.

10

2. Animaux

Toutes les expériences ont été réalisées sur des rats mâles Sprague-Dawley de
300 à 350 grammes (Iffa Credo, France). Les rats sont groupés à raison de 5 par cage;
l'eau et la nourriture leur sont fournis à volonté. Tous les animaux sont élevés dans des
15 conditions identiques de température (23 ± 1°C) dans une animalerie présentant
alternativement des périodes d'éclairement (7h à 19h) et d'obscurité (19h à 7h). Chaque
expérience comporte deux lots de 10 rats dont l'entretien quotidien est assuré par
l'expérimentateur afin d'éviter au maximum toute perturbation des animaux. Les tests
pharmacologiques et les soins apportés aux animaux ont suivi les règles d'éthique
20 établies par le Comité de l'Association internationale de lutte contre la douleur (IAPS,
1993).

3. Mesure expérimentale effectuée : Mesure du seuil nociceptif

Le seuil nociceptif a été déterminé par le poids minimum supporté par la patte
25 postérieure gauche de l'animal jusqu'à l'émission d'un cri, selon la méthode de Randall-
Selitto modifiée (Kayser et Guibaud, 1990). L'appareil de Randall-Selitto permet
d'exercer une pression croissante et régulière sur la patte de l'animal; la valeur de
l'intensité de pression (exprimée en grammes) exercée sur la patte est lue à l'émission
du cri sur une échelle graduée le long de laquelle un index se déplace. Afin d'éviter
30 toute lésion des tissus de la patte, la pression maximale (cut-off) est fixée à 600g. Nous
avons retenu ce test pour notre expérimentation car il fait intervenir un stimulus de
nature mécanique, à réponse intégrée supra-spinale (cri), alors que le test de retrait de

la queue (impliquant un stimulus de nature thermique) fait intervenir une réponse à composante purement réflexe.

4. Protocole expérimental

5 4.a. Familiarisation des animaux avec l'expérimentation

Les expériences doivent être réalisées sur des animaux non stressés, afin d'éviter toute libération de peptides opioïdes endogènes susceptibles de modifier leur seuil nociceptif de base. Pour cette raison les animaux doivent être familiarisés avec :

- leur nouvel environnement: dès leur arrivée à l'animalerie, les rats sont placés en cages collectives (5 par cage) et laissés au repos pendant 2 jours.
- l'expérimentateur: il les manipule une heure par jour pendant les deux semaines suivantes (de 13h à 14h).
- les conditions expérimentales: les animaux sont pesés quotidiennement. Au moins une heure avant le début des manipulations, les animaux sont transférés de l'animalerie à la salle d'expérimentation (12h) puis sont mis en présence de l'appareil de Randall-Selitto sans subir de stimulus nociceptif.

4.b. Expérimentation

A la suite de cette période d'habituation, les animaux sont soumis au protocole expérimental. Deux jours avant l'expérimentation proprement dite (J-2 et J-1) et le jour même (J₀) deux mesures quotidiennes sont réalisées à 30 minutes d'intervalle, afin de vérifier la stabilité du seuil nociceptif des animaux.

Pour chaque expérience, 20 animaux sont appariés au hasard en deux groupes de 10 rats et une mesure du seuil nociceptif de base est effectuée pour tous les rats. Le premier groupe reçoit une injection sous-cutanée de RF₂ ou RF₃ (2.5; 5 ou 10mg/kg) et le deuxième groupe (animaux témoins) reçoit une injection sous-cutanée de sérum physiologique. Les expériences sont réalisées en aveugle (l'expérimentateur ne sait pas quelles sont les seringues contenant le RF₂/RF₃ ou le sérum physiologique). Trente minutes après ce pré-traitement (temps T₀), tous les animaux reçoivent :

- soit 4 injections de Fentanyl (60 µg/kg, s.c.) au rythme d'une injection toutes les 15 minutes,

- soit 4 injections de sérum physiologique au même rythme d'une injection toutes les 15 minutes (contrôle).

Le seuil nociceptif est mesuré alors toutes les trente minutes jusqu'au retour à la
5 valeur basale.

Les cinq jours suivant (J₁-J₅) cette expérience, le seuil nociceptif des animaux est évalué quotidiennement par deux mesures séparées par un intervalle de temps de trente minutes. Si le seuil nociceptif est retourné à sa valeur de base à J₅, une injection de naloxone (1mg/kg, s.c.) est pratiquée afin d'évaluer le niveau de fonctionnement
10 des systèmes opioïdes endogènes qui pourrait masquer, par contre réaction, une éventuelle prolongation d'activité des systèmes facilitateurs de la nociception, dont parmi eux les systèmes antiopioïdes qu'il soient NPPFergiques ou autres (CCK, Nociceptine....).

15 5. Analyse statistique

Les résultats, exprimés en valeur moyenne (\pm erreur standard) sont comparés à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un ou deux facteurs (influence du temps et/ou du traitement sur l'évolution du seuil nociceptif). Dans chaque expérience et pour les deux groupes de rats, la stabilité du seuil nociceptif basal à J₋₂, J₋₁, J₀ a été
20 déterminée par une ANOVA à un facteur dans chaque lot et à deux facteurs entre les deux lots (temps et/ou traitement).

Lorsque l'ANOVA détecte des différences intra-lot et/ou inter-lot, un test statistique post-hoc est pratiqué. Le test de Dunnett est utilisé pour préciser les différences dans l'évolution des seuils nociceptifs des animaux. Les amplitudes de
25 l'analgésie induite par le Fentanyl, seul ou combiné à un prétraitement par RF₂ ou RF₃ ont été caractérisées par la détermination des aires sous la courbe et ont été comparées statistiquement à l'aide du test "t" de Student. Une différence est considérée comme étant significative pour une probabilité $P < 0.05$.

30 6. Validation de la procédure expérimentale

Pour chacune des expériences réalisées, l'ANOVA effectuée sur les valeurs obtenues avant toute administration de substances pharmacologiques (contrôle) n'a

jamais révélé de différences significatives du seuil nociceptif entre les 2 groupes d'animaux (pas d'effet groupe), ni de variations significatives du seuil nociceptif des animaux au cours du temps (pas d'effet temps), ni de leur interaction (ANOVA 2 facteurs, $P > 0.05$), pour chacun des jours précédant l'expérimentation. Ceci suggère
5 que le seuil nociceptif des animaux est identique pour les deux groupes d'animaux et qu'il est stable au cours du temps. Ces résultats suggèrent que ces conditions expérimentales sont adéquates pour permettre d'étudier avec rigueur l'influence de diverses drogues sur la valeur du seuil nociceptif.

Pour ces mêmes expériences, la valeur de la première mesure du seuil
10 nociceptif (choisie comme étant la valeur de référence, voir Figures) évaluée le jour de l'expérimentation, avant l'administration de drogue, chez les rats témoins n'est pas significativement différente de celle du second groupe d'animaux (test "t" de Student, $P > 0.05$). Il est donc possible de comparer le seuil nociceptif entre les deux groupes d'animaux après l'administration de drogue pour chaque expérience.

15

Exemple 1 : Le ligand synthétique du récepteur NPFF, RF2, inhibe l'hyperalgie induite par le Fentanyl.

Cet exemple illustre la capacité de ligands synthétiques du récepteur NPFF
20 d'inhiber l'hyperalgie induite par des analgésiques opiacés.

Les expériences ont été réalisées dans les conditions décrites dans les matériels et méthodes. Les résultats obtenus sont présentés sur les Figures 1 et 2. Les résultats obtenus montrent (1.) que le ligand synthétique RF2 ne provoque à lui seul pas d'analgésie et (2.) que le ligand synthétique RF2 à une dose de 2,5 mg/kg ne
25 potentialise pas l'effet analgésique du fentanyl, et que l'administration de RF₂ (5mg/kg) potentialise l'effet analgésique du Fentanyl et prévient l'hyperalgie de longue durée induite par l'administration de Fentanyl.

1. Les résultats présentés sur la Figure 1 montrent que l'administration de RF₂ aux
30 doses de 2.5, 5 ou 10 mg /kg, s.c., ne provoque à elle seule aucun changement de la valeur du seuil nociceptif (voir Figure 1, pour la dose de 5mg/kg).

2. Les résultats présentés sur la Figure 2 montrent que l'administration de RF₂ à la dose de 2.5 mg/kg (s.c.) ne modifie ni l'amplitude, ni la durée de l'effet analgésique du Fentanyl (4 x 60µk/kg). En revanche, l'administration de RF₂ à une dose de 5mg/kg (voir Figure 2) ou de 10 mg/kg potentialise l'effet analgésique du Fentanyl et prévient l'hyperalgie de longue durée induite par l'administration de Fentanyl.

Plus particulièrement, la Figure 2 montre l'évolution de la valeur du seuil nociceptif évaluée par le test de Randall-Sellitto (évocation du cri de l'animal en réponse à un stimulus nociceptif mécanique, *i.e* pression exercée sur une patte, exprimé en grammes) chez des rats traités par du Fentanyl (4 injections de fentanyl à 15 minutes d'intervalle ; 60 µg/kg par injection, s.c.). Les mesures sont effectuées toutes les 30 minutes le jour d'administration des drogues puis quotidiennement les jours suivants. Chaque groupe expérimental est formé de 10 animaux. Les 2 groupes de rats ont été traités, 30 minutes avant l'injection de fentanyl, soit par du sérum physiologique (groupe NaCl), soit par du RF₂ (5mg/kg, s.c.) dans le groupe RF₂. Les valeurs du seuil nociceptif sont représentées en moyenne +/-SEM. Au jour 5 (J₅), une injection de naloxone est pratiquée (1mg/kg, s.c.) et le seuil nociceptif mesuré 5 minutes après cette injection de l'antagoniste opiacé, puis toutes les 30 minutes jusqu'au retour à la valeur de base du seuil nociceptif.

L'analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs montre un effet temps et un effet groupe. L'analyse post-hoc (test de Dunnett) indique une différence significative entre les 2 groupes ($p < 0.05$) pour les mesures effectuées jusqu'à 5 heures après la première administration de Fentanyl. Au cours des jours suivant celui de l'administration de Fentanyl, l'ANOVA à 2 facteurs montre un effet temps et un effet groupe chez les rats du groupe NaCl. L'analyse post-hoc (test de Dunnett) indique une différence significative entre les 2 groupes ($p < 0.05$) pendant 3 jours ainsi que suivant l'administration de naloxone à J₅. Durant les jours suivant celui de l'administration de Fentanyl, les animaux pré-traités par RF₂ ne montrent aucune modification de la valeur de leur seuil nociceptif en référence à la valeur de base de leur seuil nociceptif (test de Student).

30

Exemple 2 : Le ligand synthétique du récepteur NPFF, RF₃, inhibe l'hyperalgie induite par le Fentanyl.

Cet exemple illustre la capacité de ligands synthétiques du récepteur NPFF d'inhiber l'hyperalgie induite par des analgésiques opiacés.

Les expériences ont été réalisées dans les conditions décrites dans les matériels et méthodes. Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 3. Les résultats présentés
5 montrent que l'administration de RF₃ à une dose de 5mg/kg ou de 10 mg/kg potentialise l'effet analgésique du Fentanyl et prévient l'hyperalgie de longue durée induite par l'administration de Fentanyl.

En particulier, la Figure 3 représente l'évolution de la valeur du seuil nociceptif évaluée par le test de Randall-Sellitto (évocation du cri de l'animal en réponse à un
10 stimulus nociceptif mécanique, *i.e.* pression exercée sur une patte, exprimé en grammes) chez des rats traités par du Fentanyl (4 injections de fentanyl à 15 minutes d'intervalle ; 60 µg/kg par injection, *s.c.*). Les mesures sont effectuées toutes les 30 minutes le jour d'administration des drogues puis quotidiennement les jours suivants. Chaque groupe expérimental est formé de 10 animaux. Les 2 groupes de rats ont été traités, 30 minutes
15 avant l'injection de fentanyl, soit par du sérum physiologique (groupe NaCl), soit par du RF₃ (5mg/kg, *s.c.*) dans le groupe RF₃. Les valeurs du seuil nociceptif sont représentées en moyenne +/-SEM. Au jour 5 (J₅), une injection de naloxone est pratiquée (1mg/kg, *s.c.*) et le seuil nociceptif mesuré 5 minutes après cette injection de l'antagoniste opiacé, puis toutes les 30 minutes jusqu'au retour à la valeur de base du seuil nociceptif.

20 L'analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs montre un effet temps et un effet groupe. L'analyse post-hoc (test de Dunnett) indique une différence significative entre les 2 groupes ($p < 0.05$) pour les mesures effectuées jusqu'à 4 heures après la première administration de Fentanyl. Au cours des jours suivant celui de l'administration de Fentanyl, l'ANOVA à 2 facteurs montre un effet temps et un effet groupe. L'analyse
25 post-hoc (test de Dunnett) indique une différence significative entre les 2 groupes ($p < 0.05$) le jour suivant celui de l'administration de Fentanyl ainsi que suivant l'administration de naloxone à J₅ chez les animaux du groupe NaCl. Durant ces jours suivant celui de l'administration de Fentanyl, les animaux pré-traités par RF₂ ne montrent aucune modification de la valeur de leur seuil nociceptif en référence à la valeur de base
30 de leur seuil nociceptif (test de Student).

B – SYNTHÈSE DE LIGANDS SYNTHÉTIQUES DU RÉCEPTEUR NPFF

Exemple 3 : Préparation du diacétate de N^α-Phénylacétyl-L-Arginine-L-Phénylalaninamide (4) au départ de N^α-tert-Butyloxycarbonyl-N^ω-Nitro-L-Arginine 1 (Méthode 1)

5 3.1. Préparation du N^α-tert-Butyloxycarbonyl-N^ω-Nitro-L-Arginine-L-Phénylalaninamide 2

Dissoudre 0,87 g (2,75 mmoles) de N^α-tert-Butyloxycarbonyl-N^ω-Nitro-L-Arginine 1 dans 60 ml de tétrahydrofurane anhydre et refroidir à -40°C, dans un bain
10 d'acétone/carboglace, le milieu réactionnel sous argon. Rajouter 0,38 ml (2,75 mmoles) de triéthylamine puis goutte à goutte 0,36 ml (2,75 mmoles) de chloroformate d'isobutyle. Laisser sous agitation pendant 2 minutes (formation d'un précipité blanc) puis rajouter rapidement 500 mg (2,5 mmoles) de chlorhydrate de phénylalaninamide et 0,38 ml (2,75 mmoles) de triéthylamine. Laisser le milieu revenir à température ambiante et maintenir
15 sous agitation pendant 4 heures.

Evaporer à sec et reprendre dans le dichlorométhane et une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium.

Laver ensuite la phase organique avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer.

20 Obtention de 800 mg d'une huile jaune. Purification sur colonne de silice : éluant : acide acétique/méthanol (9/1). Obtention de 650 mg de produit blanc cassé.

Rdt : 50%

CCM : éluant : acide acétique/méthanol (9/1) : R_f = 0,62

F = 97°C

25 ¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆ + D₂O) : δ 1,31 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,43 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 1,68 (m, 2H, CH₂-CH(NH₂)-CO) ; 2,76 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂) ; 3,01 (d, 2H, C₆H₅-CH₂) ; 3,93 (t, 1H, CH₂-CH(NH₂)CO) ; 4,62 (t, 1H, C₆H₅-CH₂-CH) ; 7,10-7,40 (m, 5H, H arom.).

30 3.2. Préparation du N^α-phénylacétyl-N^ω-Nitro-L-Arginine-L-Phénylalaninamide 3

Dissoudre 650 mg (1,40 mmoles) du dipeptide précédemment formé dans 18 ml d'un mélange acide acétique/acide chlorhydrique (2/1) et laisser réagir 3 heures à température

ambiante. Evaporer à sec. Plusieurs azéotropes sont effectués successivement avec de l'éthanol puis du cyclohexane. On obtient 560 mg de chlorhydrate.

Rdt : 100%

¹H RMN (200 MHz, D₂O) : δ 1,46 (*m*, 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 1,70 (*m*, 2H, CH₂-CH(NH₂)-CO) ; 2,99 (*m*, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂) ; 3,10 (*d*, 2H, C₆H₅-CH₂) ; 3,83 (*t*, 1H, CH₂-CH(NH₂)-CO) ; 4,85 (*t*, 1H, C₆H₅-CH₂-CH) ; 7,10-7,40 (*m*, 5H, *H* arom.).

Dans un bicol sous argon, dissoudre 200 mg (0,498 mmole) du chlorhydrate obtenu dans 10 ml de tétrahydrofurane anhydre et refroidir le milieu réactionnel à -20°C. Rajouter 0,15 ml (0,55 mmole) de triéthylamine et laisser agiter pendant 10 minutes. Rajouter ensuite goutte à goutte 0,072 ml (0,55 mmole) de chlorure de phénylacétyl. Laissez revenir à température ambiante pendant 3 heures. Evaporer à sec et reprendre avec de l'acétate d'éthyle et une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. Extraire 4 fois avec de l'acétate d'éthyle, sécher la phase organique sur du sulfate de sodium, filtrer et évaporer à sec.

Obtention de 140 mg d'une huile jaune. Purification sur colonne de silice : éluant : Acétate d'éthyle / Méthanol (9/1). Obtention de 100 mg de produit pur sous forme de poudre blanche.

Rdt : 42%

CCM : éluant : Acétate d'éthyle / Méthanol (9/1) : R_f = 0,63

F = 203°C

¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆ + D₂O) : δ 1,45 (*m*, 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 1,60 (*m*, 2H, CH₂-CH-(NH-CO)-CO) ; 2,95-3,15 (*m*, 4H, NH-CH₂-CH₂-CH₂ et C₆H₅-CH₂) ; 3,50 (*d*, 2H, NH-CO-CH₂-C₆H₅) ; 4,20 (*t*, 1H, CH₂-CH-(NH-CO)-CO) ; 4,40 (*m*, 1H, CH-CH₂-C₆H₅) ; 7,18-7,22 (*m*, 10H, *H* arom.).

3.3. Préparation du Diacétate de N^α-Phénylacétyl-L-Arginine-L-Phénylalaninamide 4

Hydrogéner pendant une nuit 100 mg (0,2 mmoles) du produit 3 obtenu précédemment, dissous dans du méthanol contenant 10% d'acide acétique glacial, à 40 psi en présence de 10% Pd/C. Filtrer et concentrer sous vide. Obtention de 70 mg de poudre brune.

Rdt : 95%

F > 220°C

¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆ + D₂O) : δ 1,45 (*m*, 2H, CH₂-CH₂-CH₂) ; 1,60 (*m*, 2H, CH₂-CH-(NH-CO-)-CO) ; 2,95-3,15 (*m*, 4H, NH-CH₂-CH₂-CH₂ et C₆H₅-CH₂) ; 3,50 (*d*, 2H, NH-CO-CH₂-C₆H₅) ; 4,10 (*t*, 1H, CH₂-CH-(NH-CO-)-CO) ; 4,36 (*m*, 1H, CH-CH₂-C₆H₅) ; 7,18-7,22 (*m*, 10H, *H* arom.).

Exemple 4 : Préparation du chlorhydrate de N^α-[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arginine-L-Phényl alaninamide (7) au départ de N^α-Cbz-L-Arginine 5 (Méthode 2)

10

4.1. Préparation du Chlorhydrate de N^α-Carboxy-L-Arginine Anhydride 6

Placer 300 mg (0,87 mmole) de chlorhydrate de N^α-Cbz-L-Arginine 5 dans 12 ml de tétrahydrofurane anhydre, sous argon. Ajouter 0,3 ml (3,2 mmoles, 3,6 éq) de tribromure de phosphore et porter le mélange à reflux (t° extérieure = 60°C) jusqu'à dissolution totale du produit de départ (environ 4 heures). Evaporer à sec le tétrahydrofurane. Mettre à la pompe à vide pendant 1 heure pour bien sécher l'huile obtenue. L'huile cristallise dans du chloroforme. Décantier le chloroforme puis triturer rapidement à l'éther, le décantier. Reprendre de nouveau dans l'éther, décantier et sécher sous vide. On obtient un solide blanc très hygroscopique.

20

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 1,50-1,80 (*m*, 4H, -CH-CH₂-CH₂) ; 2,90-3,00 (*m*, 2H, CH₂-NH) ; 4,40-4,50 (*m*, 1H, CH-CH₂-CH₂).

4.2. Préparation du Chlorhydrate de N^α-[(1H)-Indole-2-Carbonyl]-L-Arginine-L-Phénylalanineamide 7

25

Au chlorhydrate de N^α-carboxy-L-arginine anhydride 6 obtenu précédemment on ajoute 0,142 g (8,7.10⁻⁴ moles) de L-Phénylalaninamide puis 10 ml d'eau. Laisser une nuit à 60°C (t° extérieure). Après refroidissement du milieu réactionnel, ajouter 0,1 g (8,7.10⁻⁴ moles) de bicarbonate de sodium pour obtenir un pH de 9-10. Ajouter alors 0,1 ml (8,7.10⁻⁴ moles) de chlorure d'indolyle. Laissez sous agitation 3 heures en veillant à ce que le pH se maintienne à 9-10. Acidifier jusqu'à pH = 1 avec une solution d'acide

30

chlorhydrique 1N. Extraire trois fois à l'acétate d'éthyle puis évaporer à sec la phase aqueuse. Le brut de réaction est purifié par chromatographie liquide haute performance.

Colonne Vydac C₁₈ phase inverse

Débit 10 ml/min

5 Gradient eau + 0,1% TFA-MeOH (98 : 2 à 60 : 40 en 5 min puis 48 : 52 en 26 min).

T_R HPLC : 28,7 min., produit lyophilisé

Rdt : 10%

10 ¹H RMN (300 MHz, MeOD) : δ 1,57-1,64 (*m*, 2H, CH-CH₂-CH₂) ; 1,77-1,89 (*m*, 2H, CH₂-CH-NH) ; 2,90-2,97 (*m*, 2H, CH₂-C₆H₅) ; 3,15-3,32 (*m*, 2H, NH-CH₂) ; 4,52-4,57 (*m*, 1H, CH₂-CH-NH) ; 4,66-4,79 (*m*, 1H, CH-CH₂-C₆H₅) ; 7,02-7,22 (*m*, 7H, *H* arom.) ; 7,45-7,50 (*d*, J=7.5, 1H, *H* arom.) ; 7,57-7,63 (*d*, J=7.5, 1H, *H* arom.)

15 **Exemple 5 : Préparation du chlorhydrate du N^α-Benzoyl-N^ω-Méthyl-L-Arginine-L-Phénylalanine amide (13) au départ de N^{α,ω}-bis-Benzylloxycarbonyl-L-Ornithine 8 (Méthode 3)**

5.1. Préparation du N^α-Carboxy-N^ω-Benzylloxycarbonyl-L-Ornithine Anhydride 9

20

Dissoudre 17,2 g (43 mmoles) de N^{α,ω}-bis-Benzylloxycarbonyl-L-Ornithine 8 dans 150 ml de tétrahydrofurane anhydre, sous argon, et refroidir la solution à 10°C (t° extérieure). Ajouter 9,8 g (47 mmoles, 1,1 éq) de pentachlorure de phosphore. Agiter pendant 1h30. Evaporer à sec le tétrahydrofurane. Reprendre le résidu sirupeux dans un minimum d'acétate d'éthyle et faire cristalliser le N-carboxyanhydride en ajoutant de l'éther. Filtrer, 25 laver à l'éther et sécher sous vide. Obtention de 11,9 g d'une poudre blanc cassé.

Rdt : 95%

F = 102°C

IR : 2 bandes caractéristiques 1790 et 1852 cm⁻¹

30

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) : δ 1,4-1,8 (*m*, 4H, -CH-CH₂-CH₂-) ; 3,01 (*q*, 2H, J=6.0, -CH₂-NH-) ; 4,44 (*t*, 1H, J=6.1, -CH-CH₂) ; 5,01 (*s*, 2H, -O-CH₂-Ph-) ; 7,3-7,4 (*m*, 6H, *H* arom. et -NHCbz) ; 9,10 (*s*, 1H, -NH-CH- échangeable D₂O).

^{13}C RMN (300 MHz, DMSO- d_6) : 25,58 (-CH-CH₂-CH₂-); 29,05 (-CH-CH₂-CH₂-); 57,32 (-CH-CH₂-); 65,77 (-CH₂-Ph); 128,87 et 128,25 (-CH arom.); 137,78 (-C quaternaire arom.); 152,46 (-NH-C(O)O-); 156,72 (BnO-C(O)O-); 172,04 (-CH-C(O)O-).

5

5.2. Préparation du Chlorhydrate de N^α-Benzoyl-L-Ornithine-L-Phénylalanineamide 10

Dissoudre 0,5 g (1,71 mmoles) de l'anhydride 9 dans 3 ml de diméthylformamide sec. Refroidir le mélange à -40°C (t° extérieure). Ajouter une solution de L-phénylalanineamide 0,35 g (1,71 mmoles) dans 3 ml de chloroforme contenant 0,19 ml (1,71mmoles) de N-Méthylmorpholine. Laisser remonter à température ambiante puis chauffer à 60°C (t° extérieure) pendant 30 minutes. Après refroidissement de la solution, additionner 0,19 ml (1,71 mmoles) de chlorure de benzoyle dissout dans 1 ml de chloroforme. Abandonner sous agitation le milieu réactionnel pendant 12 heures.

Evaporer le chloroforme à l'évaporateur rotatif. Verser la diméthylformamide restant dans 50ml d'eau et agiter pendant 1h. Puis refroidir le milieu réactionnel à 0°C pendant 4 heures et filtrer. Laver les cristaux obtenus plusieurs fois à l'éther. On obtient 0,75 g d'une poudre blanche qu'on solubilise dans 25 ml de méthanol et 0.15 ml d'acide chlorhydrique concentré. On y ajoute 70 mg de Pd/C à 10% et le milieu réactionnel est hydrogéné à 60 psi pendant 18 heures. Après filtration du catalyseur sur terre d'infusoire, on évapore à sec. On obtient 420 mg d'une poudre blanche après trituration dans l'éther et filtration.

Rdt : 95%

F = 233°C

25 $[\alpha_D]$: -18°C (c = 5 mg/ml, méthanol)

^1H RMN (200 MHz, CD₃OD) : δ 1,55-1,95 (m, 4H, CH₂-CH(NH)-CO et CH₂-CH₂-CH₂); 2,85-3,25 (m, 4H, C₆H₅-CH₂ et NH₂-CH₂); 4,55 (m, 2H, CH₂-CH(NH)-CO et C₆H₅-CH₂-CH); 6,95 (m, 5H, C₆H₅-CH₂); 7,35 (m, 3H, C₆H₅-CO); 7,80 (d, J=7.0, 2H, C₆H₅-CO).

30 Analyse centésimale : Analyse calculée à partir de C₂₁H₂₆N₄O₃, HCl : C% : 60,21 ; H% : 6,50 ; N% : 13,37. Trouvé : C% : 60,20 ; H% : 6,48 ; N% : 13,32.

5.3. Préparation du N^α-Benzoyl-N^ω-thiouréido-L-Norvaline-Phénylalaninamide **11**

Rajouter 0,5 g (1,2 mmoles) de chlorhydrate de N^α-benzoyl-L-Ornithine-L-Phénylalaninamide **10** à un mélange de chloroforme (100 ml) et d'eau (100 ml) contenant
5 0,4 g (4,0 mmoles, 3,3 éq) de carbonate de calcium et 0,1 g (1,2 mmoles) d'hydrogénocarbonate de sodium. Laisser sous agitation pendant 5 minutes puis rajouter 0,12 ml (1,5 mmoles, 1,2 éq) de thiophosgène. Maintenir une agitation vigoureuse pendant 2 heures. Filtrer et séparer la phase organique et la phase aqueuse. Laver le précipité (sels minéraux) avec de l'éthanol pour récupérer le produit de réaction
10 relativement peu soluble dans le chloroforme. Rassembler les phases organiques et concentrer sous vide. Reprendre le résidu dans 100 ml de méthanol, refroidir à 0°C et faire buller de l'ammoniaque pendant 10 minutes. Laisser sous agitation pendant 2 heures puis concentrer sous vide. Chromatographier le résidu sur colonne de silice (éluant acétate d'éthyle-méthanol 9/1) pour obtenir 0,35 g d'un solide blanc.

15 Rdt : 66%

F = 183°C

[α_D] : -25,6° (c = 5 mg/ml, méthanol)

¹H RMN (200 MHz, CD₃OD) : δ 1,45-1,85 (m, 4H, CH₂-CH(NH)-CO et CH₂-CH₂-CH₂); 2,85-3,20 (m, 4H, C₆H₅-CH₂ et NH₂-CS-NH-CH₂); 4,45 (m, 2H, CH₂-CH(NH)-CO et C₆H₅-CH₂-CH); 7,00 (m, 5H, H arom.); 7,35 (m, 3H, H arom.); 7,80 (m, 2H, H arom.)

20

5.4. Préparation du N^α-Benzoyl-N^ω-*tert*-butyloxycarbonyl-N^{ω'}-Méthyl-L-Arginine-L-Phénylalaninamide **12**

25

Dissoudre 0,55 g (1,24 mmoles) du thiourée **11** obtenu précédemment et 0,15 ml (2,48 mmoles, 2 éq) de iodométhane dans 20 ml d'acétonitrile et laisser sous agitation pendant 16 heures. Concentrer sous vide pour obtenir 0,71 g de produit blanc. Reprendre dans un mélange de 10 ml d'une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium et de
30 10 ml de 1,4-dioxanne. Rajouter à ce mélange 0,32 g de dicarbonate de di-*tert*-butyle et laisser sous agitation pendant 24 heures. Concentrer le dioxanne et extraire avec 100 ml d'acétate d'éthyle. Laver la phase organique avec une solution aqueuse saturée de

chlorure de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide pour obtenir 0,55 g de S-Me isothiourée de couleur jaune.

Rdt : 80%

F = 105°C

- 5 ^1H RMN (200 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$) : δ 1,49 (*s*, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,60-2,00 (*m*, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{NH})\text{-CO}$ et $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 2,42 (*s*, 3H, S-CH_3) ; 3,05 (*m*, 2H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$) ; 3,25 et 3,45 (*m*, 2H, $\text{C}(\text{CH}_3\text{S})\text{-NH-CH}_2$) ; 4,65 (*m*, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{NH})\text{-CO}$ et $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH}$) ; 7,05 (*m*, 5H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$) ; 7,35 (*m*, 3H, *H* arom.) ; 7,80 (*m*, 2H, *H* arom.)

10

Dissoudre 0,55 g (0,98 mmoles) de S-Me isothiourée obtenu dans 100 ml d'acétonitrile et refroidir la solution à 0°C. Rajouter ensuite 0,16 ml (1,17 mmoles) de triéthylamine, 1 ml (1,96 mmoles) d'une solution de méthylamine 2N/tétrahydrofurane, puis 0,25 g (1,47 mmoles) de nitrate d'argent. Laisser sous agitation pendant 12 heures à température ambiante. Filtrer sur célite pour éliminer les sels d'argent et concentrer sous vide. Chromatographier le résidu sur colonne de silice (éluant acétate d'éthyle-méthanol 9/1 + 5% triéthylamine) pour obtenir 0,20 mg de solide blanc.

15

Rdt : 38%

Rf (AcOEt-MeOH 9/1 +5% TEA) : 0.54

20

F = 124°C

- 25 ^1H RMN (200 MHz, $\text{DMSO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$) : δ 1,32 (*s*, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,38-1,55 (*m*, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{NH})\text{-CO}$ et $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 2,67 (*s*, 3H, NH-CH_3) ; 2,75 (*m*, 1H, $\text{C}(\text{CH}_3\text{NH})\text{-NH-CH}_2$) ; 2,95 (*m*, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3\text{NH})\text{-NH-CH}_2$ et $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$) ; 4,32-4,45 (*m*, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{NH})\text{-CO}$ et $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH}$) ; 7,05 (*m*, 5H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$) ; 7,35 (*m*, 3H, *H* arom.) ; 7,80 (*m*, 2H, *H* arom.)

5.5. Préparation du Chlorhydrate du $\text{N}^\alpha\text{-Benzoyl-N}^\omega\text{-Méthyl-L-Arginine-L-Phénylalanine}$ amide 13

30

Dans un bicol doté d'un tube de garde contenant du chlorure de calcium dissoudre 0,18 g de l'amine protégée obtenue précédemment dans 8 ml d'acétate d'éthyle anhydre et faire

buller HCl gaz pendant 5 minutes. Suivre par CCM (Acétate d'éthyle) la disparition du produit de départ. Filtrer le précipité blanc formé (0,14 g).

Rdt : 90%

F = 127°C

5 $[\alpha_D] : -28^\circ$ (c = 5 mg/ml, MeOH)

^1H RMN (200 MHz, CD_3OD) : δ 1,45-1,75 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH(NH)-CO}$ et $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 2,75 (s, 3H, NH-CH_3) ; 2,95 (m, 1H, $\text{C(CH}_3\text{NH)-NH-CH}_2$) ; 3,15 (m, 3H, $\text{C(CH}_3\text{NH)-NH-CH}_2$ et $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$) ; 4,45-4,75 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH(NH)-CO}$ et $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH}$) ; 7,00 (m, 5H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$) ; 7,35 (m, 3H, *H* arom.) ; 7,80 (m, 2H, *H* arom.).

10

Exemple 6 : Préparation du chlorhydrate de N^α -Benzoyl- N^α -Méthyl-L-Arginine-L-Phénylalanine amide (18) au départ de N^α -tert-Butyloxycarbonyl- N^α -Méthyl- $\text{N}^{\text{w,w}}$ di-benzyloxycarbonyl-L-Arginine 15 (méthode 4)

15

Au départ du N^α -tert-Butyloxycarbonyl- N^α -Méthyl- $\text{N}^{\text{w,w}}$ di-benzyloxycarbonyl-L-Arginine 15 et en suivant le mode opératoire du couplage avec la L-Phénylalaninamide décrit dans l'exemple 3 (méthode 1), le dipeptide amide 16 est obtenu avec un rendement de 53%.

20 Ce dipeptide amide 16 est ensuite déprotégé en milieu acide et acylé par le chlorure de benzoyle toujours dans les conditions des réactions décrites dans l'exemple 3 (méthode 1). On obtient ainsi le composé 17. La déprotection des groupements benzyloxycarbonyles est effectuée par hydrogénation comme décrit dans l'exemple 3 (méthode 1) en remplaçant l'acide acétique par de l'acide chlorhydrique concentré en quantité

25 stoechiométrique. Le rendement global pour la formation de 18 est de 35%.

F = 90°C

^1H RMN : (300 MHz, DMSO-d_6) : δ 1,48 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 1,70 (m, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-CO}$) ; 1,70 (s, 3H, NCH_3) ; 2,80-3,12 (m, 4H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ et $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 4,30-4,37 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$) ; 4,42-4,47 (m, 1H, $\text{CH-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) ; 7,11-8,05 (m, 10H, *H* arom.)

30

Exemple 7 : Préparation du chlorhydrate du N^α-Benzoyl-3-guanidino-N-Phénéthyl-L-Phényl glycinamide 24 au départ N^α-tert-Butyloxycarbonyle-3-Nitro-L-Phénylglycine 19 (méthode 5)

5 7.1. Préparation du N^α-tert-Butyloxycarbonyle-3-Nitro-N-Phénéthyl-L-Phénylglycinamide 20

Dissoudre 12,7 g (43,0 mmol) de N^α-tert-Butyloxycarbonyle-3-Nitro-L-Phénylglycine 19 et 7,4 g (64,5 mmol, 1,5 éq) de N-hydroxysuccinimide dans 400 ml de 1,4-dioxane.
10 Rajouter goutte à goutte 9,7 g (47,3 mmol, 1,1 éq) de DCC dissous dans 100 ml de 1,4-dioxane et maintenir sous agitation pendant 12 heures. Séparer la DCU formée par filtration et concentrer sous vide. Reprendre le résidu dans 400 ml d'acétate d'éthyle et laver avec 300 ml d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. Sécher la phase organique sur du sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide pour obtenir 16,1 g
15 d'une huile jaune utilisée telle quelle pour la suite.

Dissoudre l'huile jaune précédemment obtenue dans 600 ml de 1,4-dioxane et rajouter goutte à goutte 6,2 ml (49,2 mmol) de Phénéthylamine. Maintenir sous agitation pendant 2 heures puis concentrer sous vide. Reprendre le résidu dans 750 ml d'acétate d'éthyle et laver avec 500 ml d'une solution aqueuse d'acide citrique à 5%. Sécher la
20 phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide. Triturer dans l'éther et filtrer pour obtenir 13,6 g de solide blanc.

Rdt : 79%

F = 175°C

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 1,43 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 2,73 (t, J=7.5, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,41-3,64 (m, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 5,15 (s, 1H, CH-NH-C(CH₃)₃) ;
25 5,70 et 5,95 (deux s échangeables D₂O, 2H, CO-NH-C(CH₃)₃ et CO-NH-CH₂) ; 6,98-7,01 (m, 2H, H arom.) ; 7,19-7,23 (m, 3H, H arom.) ; 7,50 (t, J=8.0, 1H, H_b) ; 7,63 (d, J=7.6, 1H, H_c) ; 8,17-8,19 (m, 2H, H_a et H_d)

30 7.2. Préparation du N^α-Benzoyl-3-Nitro-N-Phénéthyl L- Phénylglycinamide 21

Dans un bicol muni d'un tube de garde contenant du chlorure de calcium, dissoudre 1,2 g

(3,0 mmoles) du produit **20** précédemment obtenu dans 20 ml d'acétate d'éthyle. Refroidir à 0°C et faire barboter HCl gaz pendant 5 minutes. Suivre sur CCM (Acétate d'éthyle) la disparition du produit de départ. Filtrer le précipité blanc qui s'est formé. Rajouter de l'éther au filtrat, laisser refroidir à 0°C et refiltrer pour obtenir en tout 1,0 g
 5 de solide blanc sous forme de chlorhydrate.

Rdt : 95%

F = 220°C

¹H RMN (200 MHz, CD₃OD) : δ 2,64 (t, J=7.5, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,20-3,46 (m, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 5,15 (s, 1H, CH-NH₂) ; 7,01-7,03 (m, 2H, H arom.) ;
 10 7,10-7,13 (m, 3H, H arom.) ; 7,73 (t, J=8.0, 1H, H_b) ; 7,96 (d, J=7.6, 1H, H_c) ; 8,26 (d, J=8.4, 1H, H_a) ; 8,43 (s, 1H, H_d) ; 8,94 (s large échangeable D₂O, 3H, NH₂ et HCl)

Dans un bicol sous argon, dissoudre 3,0 g (8,93 mmoles) du chlorhydrate précédemment
 15 obtenu dans 50 ml de tétrahydrofurane anhydre et porter le milieu réactionnel à -20°C. Rajouter 3,0 ml (21,4 mmoles, 2,4 éq) de triéthylamine et laisser agiter pendant 10 minutes. Rajouter ensuite goutte à goutte 1,3 ml (10,7 mmoles, 1,2 éq) de chlorure de benzoyle. Laisser le milieu revenir à température ambiante et maintenir l'agitation pendant 3 heures. Concentrer sous vide et reprendre avec de l'acétate d'éthyle et une
 20 solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. Extraire à l'acétate d'éthyle, sécher la phase organique sur du sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide. Triturer à l'éther pour obtenir 3,1 g de solide blanc.

Rdt : 83%

F = 174°C

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 2,70 (t, J=7.5, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,30-3,66 (m, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 5,96 (d, J=7.5, 1H, CH-NH-CO) ; 6,10 (s échangeable D₂O, 1H, CO-NH-CH₂) ; 6,95-7,10 (m, 5H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 7,45-7,60 (m, 5H, CO-C₆H₅) ; 7,75-7,85 (m, 2H et 1H échangeables D₂O, H_b et CH-NH-CO) ; 7,95 (d, J=7,6, 1H, H_c) ; 8,16 (d, J=8.4, 1H, H_a) ; 8,30 (s, 1H, H_d)
 25

30

7.3. Préparation du N^α-Benzoyl-3-Amino-N-Phénéthyl L-Phénylglycinamide **22**

Hydrogéner à 70 psi pendant 7 heures 3,0 g (7,45 mmoles) du produit 21 précédemment obtenu dissous dans 60 ml d'éthanol en présence de 0,3 g de Pd/C à 10%. Filtrer et concentrer sous vide. Chromatographier le résidu sur colonne de silice (éluant : Acétate d'éthyle - Hexane 2/1) pour obtenir 2,1 g de solide blanc.

5 Rdt : 75%

F = 124°C

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 2,65 (t, J=7.5, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,35 et 3,50 (m, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,60 (s élargi échangeable D₂O, 2H, CH-C₆H₄-NH₂) ; 5,50 (d, J=7,5 ; 1H, CH-NH-CO) ; 6,15 (s, échangeable D₂O, 1H, CO-NH-CH₂) ; 6,60 (d, J=8.3, 1H, H arom.) ; 6,70 (m, 2H, H arom.) ; 7,00 (d, J=8.5, 2H, H arom.) ; 7,10-7,30 (m, 4H, H arom.) ; 7,40-7,55 (m, 3H, H arom.) ; 7,65 (d échangeable D₂O, J=8.0, 1H, CH-NH-CO) ; 7,79-7,82 (m, 2H, H arom.).

10

7.4. Préparation du N^α-Benzoyl-3-(N,N'-di(*tert*-Butyloxycarbonyl)guanidino)-N-Phénéthyl-L-Phénylglycinamide 23

15

Dissoudre 0,80 g (2,14 mmoles) du produit obtenu précédemment dans 30 ml de diméthylformamide et ajouter 0,98 ml (7,08 mmoles, 3,3 éq) de triéthylamine et 1,37 g (4,70 mmoles, 2,2 éq) de N,N'-di(*tert*-butyloxycarbonyl)-S-méthylisothiourée. Refroidir à 0°C et ajouter 0,62 g (2,35 mmoles, 1,1 éq) de chlorure de mercure. Agiter pendant 3 heures. Diluer dans 50 ml d'acétate d'éthyle et filtrer sur terre d'infusoire. Rincer avec 100 ml d'acétate d'éthyle, puis laver avec 100 ml d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. Récupérer le filtrat et séparer les deux phases. Laver la phase organique avec 100 ml d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide. Chromatographier le résidu sur colonne de silice (éluant : Acétate d'éthyle) pour obtenir 0,78 g de solide blanc.

20

25

Rdt : 60%

F = 103°C

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃) : δ 1,45 (s, 18H, C(CH₃)₃) ; 2,65 (t, J=7.5, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,35-3,50 (m, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 5,55 (d, J=7.5, 1H, CH-NH-CO) ; 6,20 (s, échangeable D₂O, 1H, CO-NH-CH₂) ; 7,00-7,90 (m, 14H, H arom.)

30

7.5. Préparation du Chlorhydrate du N^α-Benzoyl-3-guanidino-N-Phénéthyl-L-Phényl glycineamide 24

Dans un bicol muni d'un tube de garde de chlorure de calcium, dissoudre 0,60 g (0,97 mmole) du produit 23 précédemment obtenu dans 15 ml d'acétate d'éthyle. Refroidir à 0°C et faire barboter HCl gaz pendant 5 minutes. Suivre par CCM (éluant : Acétate d'éthyle) la disparition du produit de départ. Filtrer le précipité blanc qui s'est formé. Rajouter de l'éther au filtrat, laisser refroidir à 0°C et refiltrer pour obtenir en tout 0,42 g de solide blanc.

10 Rdt : 90%

F = 128°C

[α_D] : -28° (c=2 mg/ml, méthanol)

Analyse centésimale : Analyse calculée à partir de C₂₄H₂₆N₅O₂Cl : C% : 61,33 ; H% : 6,00 ; N% : 14,90 ; Cl% : 7,54. Trouvée : C% : 60,79 ; H% : 5,87 ; N% :

15 14,85 ; Cl% : 7,82

¹H RMN (200MHz, D₂O) : δ 2,71 (t, J=7.5, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 3,35-3,51 (m, 2H, CH₂-CH₂-C₆H₅) ; 5,42 (s, 1H, CH-NH-CO) ; 7,05-7,12 (m, 6H, H arom.) ; 7,21-7,25 (m, 2H, H arom.) ; 7,38-7,43 (m, 3H, H arom.) ; 7,50-7,56 (m, 1H, H arom.) ; 7,64-7,67 (m, 2H, H arom.)

20

Exemple 8 : Préparation du trifluoroacétate de N^α-(4-acétylaminobutanoyl)-L-Arginine-N-phénéthylamide 28 au départ de N^α-tert-butyloxycarbonyl-N[°] 2,2,5,7,8 pentaméthylchroman-6-sulfonyl (Pmc)-L-Arginine 25 (méthode 6)

25 8.1. Préparation de N^α-tert-Butyloxycarbonyl-N[°] 2,2,5,7,8 pentaméthylchroman-6-sulfonyl (Pmc)-L-Arginine-N-phénéthylamide 26.

Dissoudre 0,640g (1,18mmole) de N^α-tert-Butyloxycarbonyl N[°](Pmc) Arg 25 dans 20 ml d'acétonitrile. Ajouter 0,32g d'hydroxybenzotriazole et 0,28mg (0,3 ml) de phénéthylamine. Ajouter alors à 0°C et goutte à goutte 0,27g de DCC dans 8 ml d'acétonitrile. Laissez revenir à température ambiante, puis abandonner le milieu réactionnel pendant la nuit. Filtrer le précipité obtenu. Evaporer l'acétonitrile puis

30

reprendre le brut réactionnel avec de l'acétate d'éthyle. Lavez la phase organique avec une solution de HCl 1N puis avec une solution de NaHCO₃ saturée puis avec une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide. Chromatographier le résidu sur colonne de silice (éluant : AcOEt/Hexane, 3/1) pour
 5 obtenir 0,6g d'une poudre beige.

¹H RMN (300MHz, CDCl₃) : δ 1.25 (s, 6H, 2xPmc CH₃) ; 1,39 (s, 9H, C(CH₃)₃)
 1,43-1,80 (m, 6H, CH₂-C(CH₃)₂-O- et CH₂-CH₂-CH(NHBOC)-CO-) ; 2,15 (s, 3H
 CH₃ *m* à ...SO₂) ; 2,55 (2s, 6H, 2xCH₃ *o* à ...SO₂) ; 2,57 (t, 2H, CH₂-CH₂-C(CH₃)₂-
 O-) ; 2,75 (t, 2H, CH₂-Ph) ; 3,25 (m, 2H, CH₂-N-Guanidine) ; 3,55 (m, 2H, CH₂-
 10 NH-CO-CH-) ; 4,15 (m, 1H, BOCNH-CH-CO-) ; 7,10-7,40 (m, 5H, *H* arom).

8.2. Préparation de N^α-(4-acétylaminobutanoyl)-N^ω 2,2,5,7,8 pentaméthylchroman-6-sulfonyl (Pmc) L-Arginine-N-phénéthylamide 27.

15 Dissoudre 0,55g (0,86mmole) du produit 26 préalablement préparé dans 6ml d'acétate d'éthyle. Ajouter 4ml d'une solution d'HCl gaz /AcOEt 2,4 N et abandonner la nuit. Evaporer à sec le milieu réactionnel. Reprendre avec du dichlorométhane puis laver la phase organique avec une solution de NaHCO₃ saturée. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide. Reprendre le brut obtenu dans 10ml d'acétonitrile. Ajouter
 20 0,125g (0,86 mmole) d'acide 4-acétamidobutyrique et 0,128g (0,86 mmole) d'hydroxybenzotriazole. Ajouter à 0°C, goutte à goutte 0,2g de DCC et abandonner la nuit. Filtrer la DCU formée. Evaporer à sec puis solubiliser le résidu obtenu dans 20ml de dichlorométhane. Laver la phase organique avec 20ml d'une solution de HCl 1N, puis 20ml d'une solution saturée de NaHCO₃ et enfin avec une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer à sec. Triturer pendant 1h dans
 25 l'éther puis filtrer pour obtenir 0,24g d'une poudre blanche (Rdt : 41%).

¹H RMN (300MHz, CDCl₃) : δ 1.25 (s, 6H, 2xPmc CH₃) ; 1,43-1,80 (m, 8H, CH₂-C(CH₃)₂-O- et CH₂-CH₂-CH(NHCO-)-CO-et CH₂-CH₂-NHCOCH₃) ; 1,90 (s, 3H, NHCO-CH₃) ; 2,15 (s, 3H CH₃ *m* à ...SO₂) ; 2,25 (t, 2H, CH₂-CO-NH) 2,55
 30 (2s, 6H, 2xCH₃ *o* à ...SO₂) ; 2,56 (t, 2H, CH₂-CH₂-C(CH₃)₂-O-) ; 2,63 (t, 2H, CH₂-CONH-CH) ; 2,80 (t, 2H, CH₂-Ph) ; 3,25 (m, 2H, CH₂-N-Guanidine) ; 3,40-

3,55 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-NH-CO-CH-}$ et $\text{CH}_2\text{-NHCOCH}_3$) ; 4,45 (m, 1H, -CONH-CH-CO-) ; 7,20-7,40 (m, 5H, *H* arom).

8.3 . Préparation du trifluoroacétate de N^α -(4-acétylaminobutanoyl)-L-Arginine-N-phénéthylamide 28

Dissoudre 0,12g du produit 27 obtenu précédemment dans 2ml d'acide trifluoroacétate et abandonner la nuit sous agitation. Evaporer le TFA puis ajouter du pentane que l'on évapore. Cette opération est répétée 3 fois. Sécher une heure à la pompe à palette, puis triturer dans l'éther. Après filtration on obtient 0,08g d'un solide ocre.

^1H RMN (300MHz, DMSO-D_6) : δ 1.20-1.7 (m, 6H, et $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NHCO-)-CO-}$ et $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NHCOCH}_3$) ; 1,85 (s, 3H, NHCO-CH_3) ; 2,15 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CO-NH-}$) ; 2,75 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$) ; 3,15 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-N-Guanidine}$ et $\text{CH}_2\text{-NHCOCH}_3$) ; 3,35 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH-CO-CH-}$) ; 4,45 (m, 1H, -CONH-CH-CO-) ; 7,20-7,40 (m, 5H, *H* arom).

Exemple 9 : Préparation du trifluoroacétate de N^α diphénylacétyl N^ω benzyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide 32 au départ de N^γ benzyloxycarbonyl (D,L) ornithine 29 (méthode 7)

9.1. Préparation de N^α – diphénylacétyl D,L-ornithine N-benzylamide 30

Mélanger 5,5g (19,6mmol) de N^γ benzyloxycarbonyl (D, L) ornithine 29 avec 9,57ml (68,6mmol, 3,5 eq.) de TEA, 5,11g (47,0mmol, 2,4 eq.) de chlorure de triméthylsilane dans 110ml de CH_2Cl_2 . Au bout de 30min, la solution n'étant pas limpide, rajout de 20% de TEA (1,91ml, 13,72mmol) et 20% de chlorure de triméthylsilane (1,02ml, 9,4mmol). Laisser agiter à température ambiante pendant 4 heures. Laver la phase organique avec une solution saturée en NaHCO_3 (2 fois), une solution HCl 1N, puis évaporer sous pression réduite. Chromatographier le produit sur colonne de silice (éluant : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2). Pour obtenir 5,2g d'un produit visqueux incolore. Rdt. 55%.

Rf (AcOEt/Hexane 1/1) : 0,28

MS : 483,3 (M+23)

¹H RMN (MeOD, 300MHz) δ : 1,40-1,70 (m, 4H, (CH₂)₂) ; 3,15 (t, J=6,84, 2H, CH₂-CH₂-NH) ; 4,4 (m, 1H, NH-CH(CH₂)₂-CO) ; 5,0-5,1 (m, 3H, CO-CH₂-Ph + (C₆H₅)₂-CH-CO) ; 7,3-7,45 (m, 15H, Harom).

Dissoudre 4,5g (9,77mmol, 1 eq.) de l'acide obtenu précédemment dans 45ml de DMF. Ajouter 1,67g (10,25mmol, 1,05 eq.) de DIC et laisser agiter à température ambiante pendant 1h30, sous Argon. Ajouter alors 1,17ml (10,74mmol, 1,1 eq.) de benzylamine et
 10 chauffer à 80°C pendant 4 heures. Evaporer le DMF sous pression réduite, reprendre le résidu blanc dans une solution de Na₂CO₃ à 10% et laisser agiter pendant 10 minutes. Filtrer et récupérer le solide blanc après l'avoir lavé avec de l'eau. Sécher à la pompe. Dissoudre le résidu dans 250ml de MeOH. Rajouter 0,8g de Pd/C (10%) et hydrogéner à
 15 70psi pendant 30 heures. Filtrer sur célite, évaporer sous pression réduite. Triturer à l'éther deux fois, puis évaporer sous pression réduite. Obtention de 3,9g d'une poudre blanche. Rdt. 72%.

Rf (AcOEt/Hexane 1/1) : 0,25

F : 160-164°C

20 MS : 416,26 (M+23)

¹H RMN (DMSO-D₂O, 300MHz) δ : 1,50-1,70 (m, 4H, (CH₂)₂) ; 3,10 (t, J=6,42, 2H, CH₂-CH₂-NH) ; 4,38-4,5 (m, 3H, NH-CH₂-Ph + NH-CH(CH₂)₂-CO) ; 5,04 (s, 2H, CO-CH₂-Ph) ; 5,16 (s, 1H, CO-CH-Ph₂) ; 7,2-7,40 (m, 15H, Harom).

25 9.2. Préparation de N^α-diphénylacétyl N^{ω,ω} [benzyl-bis (tert-butyloxycarbonyl)] D,L-arginine N-benzylamide **31**

Dissoudre 100mg (0,24mmole) de l'amine **30** dans 4ml de DMF, avec 84μl (0,6mmole.) de TEA. Ajouter 183mg (0,48mmole.) de N-benzyl-1,3-bis (tert-butyloxycarbonyl)-2-
 30 méthyl-thiopseudourée. Agiter à température ambiante pendant la nuit, sous argon. Evaporer sous pression réduite, dissoudre le mélange dans AcOEt, laver avec de l'eau, puis avec solution saturée en NaCl et sécher la phase organique sur Na₂SO₄.

Chromatographier le produit sur colonne de silice (éluant: CH₂Cl₂/MeOH 97/3) pour obtenir 94mg d'un solide visqueux incolore. Rdt. 52%.

Rf (CH₂Cl₂/MeOH 95/5) : 0,30

5 MS : 770,44 (M+23)

¹H RMN (DMSO-D₂O, 300MHz) δ : 1,3-1,7 (*m*, 22H, (CH₂)₂ + O-C(CH₃)₃) ; 2,99 (*t*, J=7,12, 2H, CH₂-CH₂-NH) ; 4,3-4,5 (*m*, 3H, NH-CH₂-Ph + NH-CH(CH₂)₂-CO) ; 4,65 (*m*, 2H, N=C-CH₂-Ph) ; 5,09 (*s*, 1H, CO-CH-Ph₂) ; 7,25-7,40 (*m*, 20H, *H* arom.).

10

9.2. Préparation du trifluoroacétate de N^α-diphénylacétyl N^ω benzyl- D,L-arginine N-benzylamide **32**

15 Dissoudre 94mg (0,126mmole) du composé **31** dans 5ml d'un mélange CH₂Cl₂/TFA (1/1). Laisser agiter à température ambiante pendant 9 heures. Evaporer sous pression réduite et triturer à l'éther. Lyophiliser pour obtenir 50mg d'une poudre beige. Rdt. 60%.

MS : 548,34 (M+1)

20 ¹H RMN (MeOD, 300MHz) δ : 1,4-1,8 (*m*, 4H, (CH₂)₂) ; 3,12 (*t*, J=6,35, 2H, CH₂-CH₂-NH) ; 4,3-4,5 (*m*, 5H, NH-CH₂-Ph + C=N-CH₂-Ph + NH-CH(CH₂)₂-CO) ; 5,08 (*s*, 1H, CO-CH-Ph₂) ; 7,25-7,40 (*m*, 20H, *H* aromatiques).

25 ¹³C RMN (MeOD, 200MHz) δ : 27,21 (C5) ; 31,1 (C4) ; 42,9 (C6) ; 44,94 (C10) ; 46,75 (C35) ; 55,32 (C2) ; 59,56 (C18) ; 129,08-130,76 (C aromatiques) ; 138,58 (C36 ou C11) ; 140,44 (C36 ou C11) ; 141,74 (C20 et C19) ; 158,32 (C32) ; 174,49 (C17) ; 175,7 (C3).

Exemple 10 : Synthèse de Ligands synthétiques

30 En suivant les méthodes de synthèses décrites dans les exemples 3-7, les composés suivants ont été préparés.

N°	Nom de produit	Métho de
4	Acétate de N ^α -Phénylacétyl-L-Arg-L-Phe-NH ₂	1
33	Acétate de N ^α -Benzoyl-L-Arg-Tic-NH ₂ (Tic-NH ₂ = 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3 carboxamide)	1
34	Acétate de N ^α -Benzoyl-L-Arg-Atc-NH ₂ (Atc-NH ₂ = 2-amino tétraline-2-carboxamide)	1
35	Acétate de N ^α -Adamantan-1-yl-L-Arg-L-Phe-NH ₂	1
36	Acétate de N ^α -Benzoyl-L-Arg-D-Phe-NH ₂	1
37	Acétate de N ^α -Cyclohexoyl-L-Arg-L-Phe-NH ₂	1
38	Acétate de N ^α -Acétyl-L-Arg-L-Phe-NH ₂	1
39	Acétate de N ^α -Pivaloyl-L-Arg-L-Leu-NH ₂	1
40	Acétate de N ^α -Pivaloyl-L-Arg-OMe-L-Tyr-NH ₂	1
41	Acétate de N ^α -Pivaloyl-L-Arg-L-Tyr-NH ₂	1
42	Acétate de N ^α -Pivaloyl-L-Arg-L-Trp-NH ₂	1
7	Chlorhydrate de N ^α -[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arg-L-Phe-NH ₂	2
43	Chlorhydrate de N ^α -(4-chloro-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH ₂	2
44	Chlorhydrate de N ^α -(4-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D-Phe-NH ₂	2
45	Chlorhydrate de N ^α -(3-chloro-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH ₂	2
46	Chlorhydrate de N ^α -(3-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D-Phe-NH ₂	2
47	Chlorhydrate de N ^α -(3,4-dichloro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH ₂	2
48	Chlorhydrate de N ^α -(2-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH ₂	2
49	Chlorhydrate de N ^α -(4-méthyl-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH ₂	2
50	Chlorhydrate de N ^α -(4-méthoxy-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH ₂	2
51	Chlorhydrate de N ^α -(4-nitro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH ₂	2
52	Sulfonate de N ^α -Benzènesulfonyl-L-Arg-L-Phe-NH ₂	2
13	Chlorhydrate de N ^α -Benzoyl-N ^ω -Me-L-Arg-L-Phe-NH ₂	3
10	Chlorhydrate N ^α -benzoyl-L-Orn-L-Phe-NH ₂	3
11	N ^α -Benzoyl-N ^ω -thiouréido-L-Nor-Val-L-Phe-NH ₂	3
18	Chlorhydrate de N ^α -Benzoyl-N ^α -Me-L-Arg-L-Phe-NH ₂	4
24	Acétate de N ^α -Benzoyl-3-guanidino-N-Phénéthyl-L-phényl-Gly-NH ₂	5
28	Trifluoroacétate de N ^α -(4-acétylaminobutanoyl)-L-Arginine-N-phénéthylamide	6
54	Trifluoroacétate de N-(3-bromo-benzoyl)-L-arginine-N-phénéthylamide	6
55	Trifluoroacétate de N-(quinoline-3-carbonyl)-L-arginine-N-phénéthylamide	6
56	Trifluoroacétate de N ^α -[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arg-D-Phe-NH ₂	6
32	Trifluoroacétate de N ^α diphénylacétyl N ^ω benzyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide	7
57	Trifluoroacétate de N ^α diphénylacétyl N ^ω Méthyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide	7
58	Trifluoroacétate de N ^α benzoyl N ^ω méthyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide	7
RF2	Chlorhydrate de N ^α -Benzoyl L-Arginine-L-Phe-NH ₂	

Exemple 11 : Liaison des ligands au récepteur NPFF

Cet exemple démontre que l'administration in vivo de ligands synthétiques de l'invention
i) potentialise l'effet analgésique du fentanyl et ii) prévient la sensibilisation à la douleur
5 induite par le fentanyl chez l'animal douloureux (douleur de type inflammatoire).

Afin de mieux étudier l'efficacité pharmacologique de ligands synthétiques du récepteur
NPFF (par exemple du composé RF2), nous avons réalisé une étude complémentaire des
propriétés de ce composé sur des rats (souche Sprague-Dawley comme dans toute
10 l'étude) affectés d'une douleur induite par l'injection d'un agent pro-inflammatoire
(carragénine) dans une patte postérieure (injection unilatérale). Ce modèle est
particulièrement intéressant d'un point de vue méthodologique dans la mesure où la
douleur évoquée (mesurée par le test de Randall et Sellito) apparaît rapidement dans
l'heure qui suit l'injection et dure 2-3 jours (Figure 11, section A). Ce modèle de douleur
15 inflammatoire peut être considéré comme un modèle de douleur clinique largement
rencontré et a été très utilisé à ce titre dans la littérature internationale dans le cadre
d'essais pré-cliniques chez l'animal.

A. Les rats (mâle Sprague-Dawley, 300-400g) reçoivent une injection de carragénine (0,2
20 ml d'une solution à 1%) dans le coussinet plantaire de la patte postérieure gauche
(indiqué par \wedge). Quatre injections de fentanyl séparées de 15 minutes (60 μ g/kg chacune)
ou de sérum physiologique sont réalisées par voie sous-cutanée (indiquées par $_$). La
première injection est réalisée 5 minutes après celle de carragénine. Le seuil nociceptif,
mesuré par le test de vocalisation en réponse à un stimulus mécanique (test de Randall-
25 Sellito), est évalué 2h, 4h, 5h30 et 10h30 après l'administration de carragénine (J_0) ainsi
que les jours suivants (J_1 à J_7). B. Les rats reçoivent une injection de carragénine selon le
protocole précédemment indiqué (voir A). Ils reçoivent également 3 injections de RF₂
(5mg/kg) ou de sérum physiologique (indiqué par \rightarrow) selon le protocole suivant : une
première injection est effectuée 30 minutes avant l'injection de carragénine, puis 4h30 et
30 9h30 après l'injection de cet agent pro-inflammatoire. Le seuil nociceptif de la patte
injectée est mesurée 2h, 4h, 5h30 et 10h30 après l'administration de carragénine (J_0) ainsi
que les jours suivants (J_1 à J_7) en utilisant le test de Randall-Sellito. C. Les rats reçoivent

une injection de carragénine (voir A). Le RF₂ (5 mg/kg) est administré sous forme de 3 injections comme précédemment (voir B). Les animaux reçoivent également 4 injections de fentanyl (60 µg/kg chacune selon le protocole indiqué en A). Le seuil nociceptif de la patte injectée est mesuré 2h, 4h, 5h30 et 10h30 après l'administration de carragénine (J₀) ainsi que les jours suivants (J₁ à J₇) en utilisant le test de Randall-Sellito. * $P < 0,05$; ANOVA two-way, comparaison intergroupe.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- 10 1. De manière intéressante, cette étude montre, pour la première fois, que l'administration aiguë d'un analgésique opiacé puissant comme le fentanyl, s'il provoque, comme attendu, un puissant effet analgésique immédiat, potentialise tant en durée qu'en amplitude l'hyperalgésie induite par les influx nociceptifs de type inflammatoire (Voir Figure 11, section A).
- 15 2. L'administration de RF₂, à la dose de 5mg/kg (3 injections sous cutanées successives: 30 min. avant, puis 4h30 et 9h30 après celle de l'agent pro-inflammatoire), a été réalisée chez des rats ayant reçu ou non du fentanyl :
 - chez l'animal ne recevant pas de fentanyl: l'administration de RF₂ ne provoque *per se* qu'un effet analgésique modeste observable que pendant les 2 premières heures ayant suivies l'injection de carragénine (voir Figure 11, section B),
 - chez l'animal recevant du fentanyl : l'administration de RF₂ potentialise très fortement l'effet analgésique du fentanyl pendant les 4 premières heures (voir Figure 11, section C) et prévient totalement la potentialisation de l'hyperalgésie pendant 24 heures ; cet effet préventif s'estompant progressivement pour disparaître au bout de 72 heures.
- 25
- 30

Ces données montrent, pour la première fois chez l'animal douloureux, que des ligands synthétiques de l'invention, tels le RF₂, même s'ils ne sont pas ou peu analgésiques *per se* (en accord avec les données précédentes données en 2000) sont particulièrement efficaces pour prévenir la potentialisation de la sensibilisation à la douleur induite par un agent analgésique de type opiacé comme le fentanyl, largement utilisé en clinique humaine à l'occasion d'actes chirurgicaux. Ces résultats confirment donc l'utilisation avantageuse de

ligands synthétiques selon l'invention pour améliorer la prise en charge de la douleur post-opératoire par prévention des processus de sensibilisation à la douleur potentialisés par l'administration d'analgésiques opiacés (4,5 millions de patients en France par an).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allard et al., Neuroscience, 1992, 49, 101-116.
- Bourguignon et al., Proceeding International Symposium on Medicinal Chemistry,
5 1997, 35-44.
- Célérier et al., Brain Research, 1999, 847, 18-25.
- Célérier et al., Anesthesiology, 2000, 92, 465-472.
- Devillers et al, J. Neurochemistry, 1995a, 64, 1567-1575.
- Devillers et al, J. Brain Research, 1995b, 700, 173-180.
- 10 Hwa-Ok kim, Felix M, Cyprian O. Synlett 1999;2;193-194
- Kayser et Guilbaud, Pain (1990) 353.
- Larcher et al., Neuroscience, 1998, 84, 583-589.
- Laulin et al., Eur. J. Neuroscience, 1998, 10, 782-785.
- Laulin et al., Neuroscience, 1999, 89, 631-636.
- 15 Mc Nally et al., Neuroscience and Behavioural Reviews, 1999, 23, 1059-1078.
- Oberling et al., Peptides, 1993, 14, 919-924.
- Rothma, R.B. Synapse, 1992, 12, 129-138.
- Simonnet G. Société française de la douleur, 1997,
- Yang et al., PNAS, 1985, 82, 7757-7761
- 20 Xue et al, Tetrahedron letters, 1995, 1, 55-58
- Lee et al, Bioorg. Med. Chem. ;EN ;7,6,1999,1097-1104

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un ligand synthétique du récepteur NPFF pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à inhiber l'hyperalgie induite par les composés analgésiques opiacés.

2. Utilisation selon la revendication 1, pour inhiber l'hyperalgie induite par la morphine et les morphinomimétiques.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, pour inhiber l'hyperalgie induite par un composé analgésique opiacé choisi parmi la morphine, le fentanyl, le sufentanil, alfentanil, héroïne, hydromorphone, levorphanol, methadone, buprenorphine, butorphanol, meperidine.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes pour le traitement ou la prise en charge d'hypersensibilités à la douleur, de nature chronique ou aiguë, persistante ou temporaire, d'origine chirurgicale, traumatique, ou pathologique, chez l'être humain.

5. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le ligand synthétique est un antagoniste du récepteur NPFF.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le ligand synthétique est un composé dérivé de la région C-terminale du neuropeptide FF.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le ligand synthétique est un composé de formule générale (I) telle que définie dans l'une des revendications 11 à 21.

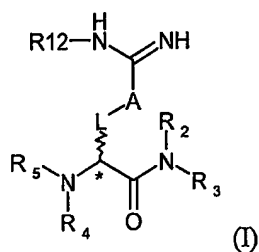
8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le ligand synthétique est administré par voie systémique, de préférence intraveineuse, sous cutanée ou intramusculaire.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, pour le traitement de l'hyperalgie chez des patients atteints de cancer ou brûlés.

5 10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, pour le traitement de l'hyperalgie post-opératoire.

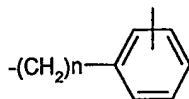
11. Composés de formule générale (I), sous forme L, D ou L/D,

10



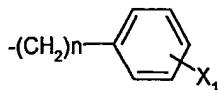
dans laquelle :

. -L- représente soit $(CH_2)_m$, m pouvant représenter 2, 3 ou 4 ; soit un groupe de formule



15 dans laquelle n vaut 0 ou 1 ;

. A est un atome de soufre ou un groupe NR_1 dans lequel R_1 représente un atome d'hydrogène, un groupe méthyle ou un groupe



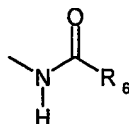
20 dans lequel n vaut 0 ou 1 et X_1 représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un groupement hydroxyle, carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino ;

. R_2 et R_{12} , indépendamment l'un de l'autre, représentent un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle ou aralkyle,

25

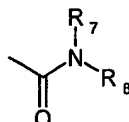
. R_3 est soit un groupe $-(CH_2)_p-W$ dans lequel p vaut 1, 3 ou 6 et W est choisi parmi

- un atome d'hydrogène,
- un groupe



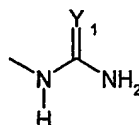
5 dans lequel R_6 est un groupement alkyle, aryle ou aralkyle,

- un groupe



dans lequel R_7 est un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle et R_8 est un atome d'hydrogène, un alkyle ou un aralkyle,

- 10
- un groupe $-OH$ ou $-OMe$,
 - un groupe

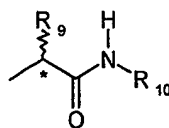


dans lequel Y est un atome d'oxygène ou de soufre, ou

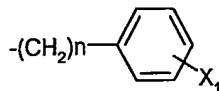
- un groupe phényle, phényle substitué ou hétéroaryle,

15

soit un groupe



en conformation L, D ou L/D, dans lequel R_9 est un groupe alkyle ou un groupe



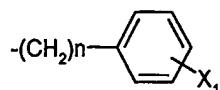
- 20 avec n ayant une valeur de 0 ou 1 et X_1 étant tel que défini ci-avant, et R_{10} est un atome d'hydrogène, un alkyle ou un aralkyle ;

soit un groupe arylcycloalkyle, éventuellement substitué

soit R_2 et R_3 forment ensemble un cycle ayant de 3 à 9 atomes de carbone, saturé ou insaturé, éventuellement aromatique, et comportant éventuellement un maillon NR_{11} , R_{11} étant un groupement alkyle, aryle ou aralkyle ;

5

. R_4 représente un atome d'hydrogène, un groupement méthyle ou un groupe

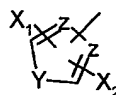
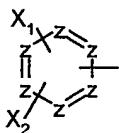
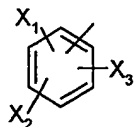


dans lequel n vaut 0 ou 1 et X_1 est tel que défini ci-avant, et

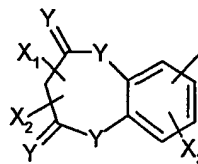
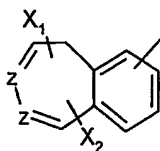
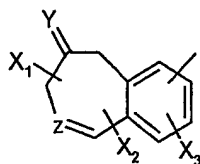
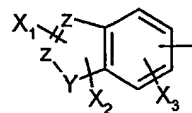
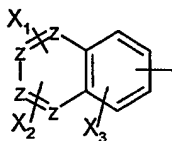
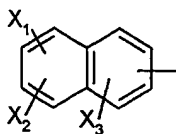
- 10 . R_5 est un groupe de formule $-\text{CO}(\text{CH}_2)_q\text{Ar}$ ou $-\text{SO}_2(\text{CH}_2)_q\text{Ar}$ dans lequel q vaut 0, 1 ou 2 et Ar comprend un groupement aromatique, substitué ou non, comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes ou R_5 est un groupe de formule $-\text{CO}-R_{13}$ dans laquelle R_{13} est un groupe $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{alkyle}$ ou $(\text{C}_3\text{-C}_{12})\text{cycloalkyle}$, éventuellement substitué.

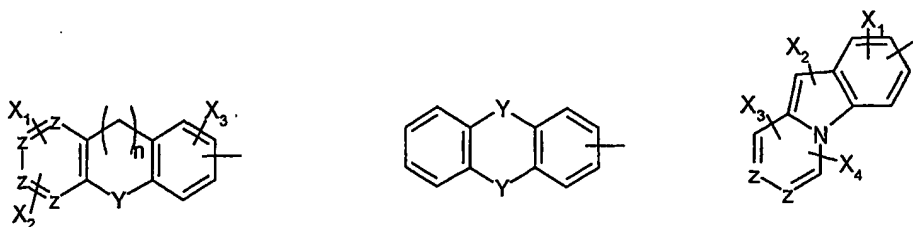
15

12. Composés selon la revendication 11, caractérisés en ce que Ar représente un groupe aromatique choisi parmi les groupements cycliques à 1, 2 ou 3 noyaux cycliques condensés suivants :



20

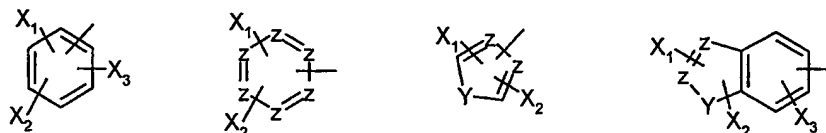




dans lesquels Z est un groupe CX₅ ou un atome d'azote, étant entendu que pour un même cycle, Z ne peut prendre plus de trois fois la signification azote, Y est un atome de soufre ou d'oxygène ou un groupe NX₅, n vaut 0, 1 ou 2, X₁, X₂, X₃, X₄ et X₅, identiques ou
 5 différents, étant choisis parmi un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, ou un groupement carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino.

13. Composés selon la revendication 11 ou 12, caractérisés en ce que R₄ est un atome d'hydrogène et R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1
 10 ou 2 et Ar comprend un groupement aromatique, substitué ou non, comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes.

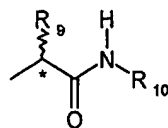
14. Composés selon la revendication 13, caractérisés en ce que R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1 ou 2 et Ar représente un groupement
 15 aromatique choisi parmi



dans lesquels Z est un groupe CX₅ ou un atome d'azote, étant entendu que pour un même cycle, Z ne peut prendre plus de trois fois la signification azote, Y est un atome de soufre ou d'oxygène ou un groupe NX₅, n vaut 0, 1 ou 2, X₁, X₂, X₃ et X₅, identiques ou
 20 différents, étant choisis parmi un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, ou un groupement carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino.

15. Composés selon la revendication 14, caractérisés en ce que R₅ est un groupe indole-2-carbonyle ou benzoyle substitué.

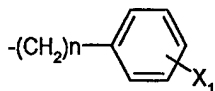
16. Composés selon l'une quelconque des revendications 11 à 15, caractérisé en ce que R₃ est un groupe



en conformation L, D ou L/D, dans lequel

5

. R₉ est un groupe



dans lequel n est 1 et X₁ est tel que défini dans la revendication 1, et

10 . R₁₀ est un atome d'hydrogène, un alkyle ou un aralkyle.

17. Composés selon la revendication 16, caractérisés en ce que R₁₀ est un atome d'hydrogène.

15 18. Composés selon l'une quelconque des revendications 11 à 17, caractérisé en ce que R₂ et R₁₂ représentent un atome d'hydrogène.

19. Composés selon l'une quelconque des revendications 11 à 18, caractérisé en ce que L est -(CH₂)₃-.

20

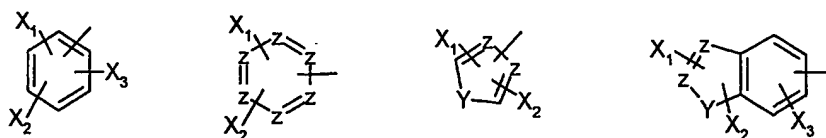
20. Composés selon l'une quelconque des revendications 11 à 19, caractérisé en ce que A est le groupe NH.

21. Composés selon la revendication 11, caractérisés en ce que :

25

. R₄ est un atome d'hydrogène,

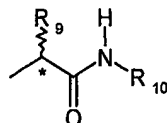
. R₅ est un groupe de formule -CO(CH₂)_qAr dans lequel q vaut 0, 1 ou 2 et Ar représente un groupement aromatique choisi parmi



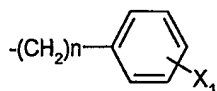
dans lesquels Z est un groupe CX_5 ou un atome d'azote, étant entendu que pour un même cycle, Z ne peut prendre plus de trois fois la signification azote, Y est un atome de soufre ou d'oxygène ou un groupe NX_5 , n vaut 0, 1 ou 2, X_1 , X_2 , X_3 et X_5 , identiques ou
 5 différents, étant choisis parmi un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, ou un groupement carboxamide, trifluorométhyle, alkoxy, amino ou acylamino.

. R_2 et R_{12} représentent un atome d'hydrogène,

10 . R_3 est un groupe



en conformation L, D ou L/D, dans lequel R_9 est un groupe



dans lequel n est 1 et X_1 est tel que défini dans la revendication 1, et R_{10} est un atome
 15 d'hydrogène

. L est $-(CH_2)_3-$, et

. A est le groupe NH.

20

22. Composition comprenant un composé de formule générale (I) selon l'une des revendications 11 à 21 et un véhicule acceptable pharmaceutiquement.

23. Procédé de préparation d'un composé selon l'une des revendications 11 à 21,
 25 comprenant la transformation chimique d'un composé de départ choisi parmi la N^α -*tert*-Butyloxycarbonyl- N^ω -Nitro-L-Arginine 1, la N^α -*tert* butyloxycarbonyl- L- Arginine 5, la $N^{\alpha,\omega}$ -bis-Benzoyloxycarbonyl-L-Ornithine 8, la N^α -*tert*-Butyloxycarbonyl- N^α -Méthyl-

N^{ω,ω}³-bis-Benzoyloxycarbonyl- L-Arginine 15 et la N^α-*tert*-Butoxy-3-Nitro-L-Phénylglycine 19.

24. Utilisation d'un composé choisi parmi

Acétate de N^α-Phénylacétyl-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Acétate de N^α-Benzoyl-L-Arg-Tic-NH₂
 Acétate de N^α-Benzoyl-L-Arg-Atc-NH₂
 Acétate de N^α-Adamantan-1-yl-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Acétate de N^α-Benzoyl-L-Arg-D-Phe-NH₂
 Acétate de N^α-Cyclohexoyl-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Acétate de N^α-Acetyl-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Acétate de N^α-Pivaloyl-L-Arg-L-Leu-NH₂
 Acétate de N^α-Pivaloyl-L-Arg-OMe-L-Tyr-NH₂
 Acétate de N^α-Pivaloyl-L-Arg -L-Tyr-NH₂
 Acétate de N^α-Pivaloyl-L-Arg -L-Trp-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(4-chloro-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(4-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(3-chloro-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(3-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D -Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(3,4-dichloro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(2-chloro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(4-méthyl-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(4-méthoxy-Benzoyl)-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α-(4-nitro-Benzoyl)-L-Arg-D,L-Phe-NH₂
 Sulfonate de N^α-Benzènesulfonyl-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α -Benzoyl-N^ω-Me-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate N^α-benzoyl-L-Orn-L-Phe-NH₂
 N^α- Benzoyl-N^ω-thiouréido-L-Nor-Val-L-Phe-NH₂
 Chlorhydrate de N^α -Benzoyl-N^ω-Me-L-Arg-L-Phe-NH₂
 Acétate de N^α-Benzoyl-3-guanidino-N-Phénéthyl-L-phényl-Gly-NH₂
 Trifluoroacétate de N^α-(4-acétylaminobutanoyl)-L-Arginine-N-phénéthylamide
 Trifluoroacétate de N-(3-bromo-benzoyl)-L-arginine-N-phénéthylamide
 Trifluoroacétate de N-(quinoline-3-carbonyl)-L-arginine-N-phénéthylamide
 Trifluoroacétate de N^α-[(1H)-Indole-2-carbonyl]-L-Arg-D-Phe-NH₂
 Trifluoroacétate de N^α diphénylacetyl N^γ benzyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide
 Trifluoroacétate de N^α diphénylacetyl N^γ Méthyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide
 Trifluoroacétate de N^α benzoyl N^γ méthyl (D,L)-Arginine-N-benzylamide
 Chlorhydrate de N^α-Benzoyl L-Arginine-L-Phe-NH₂

pour la pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à inhiber l'hyperalgie induite par les composés analgésiques opiacés.

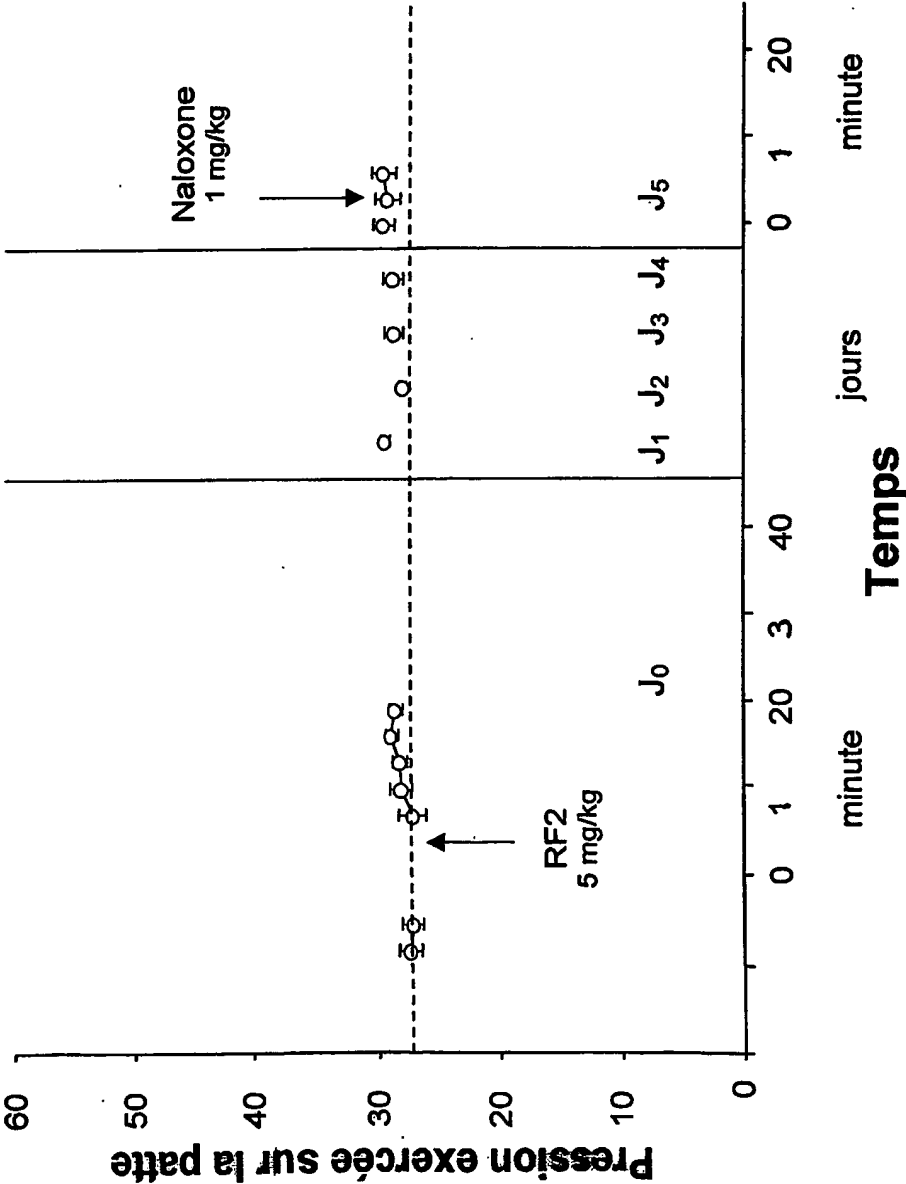
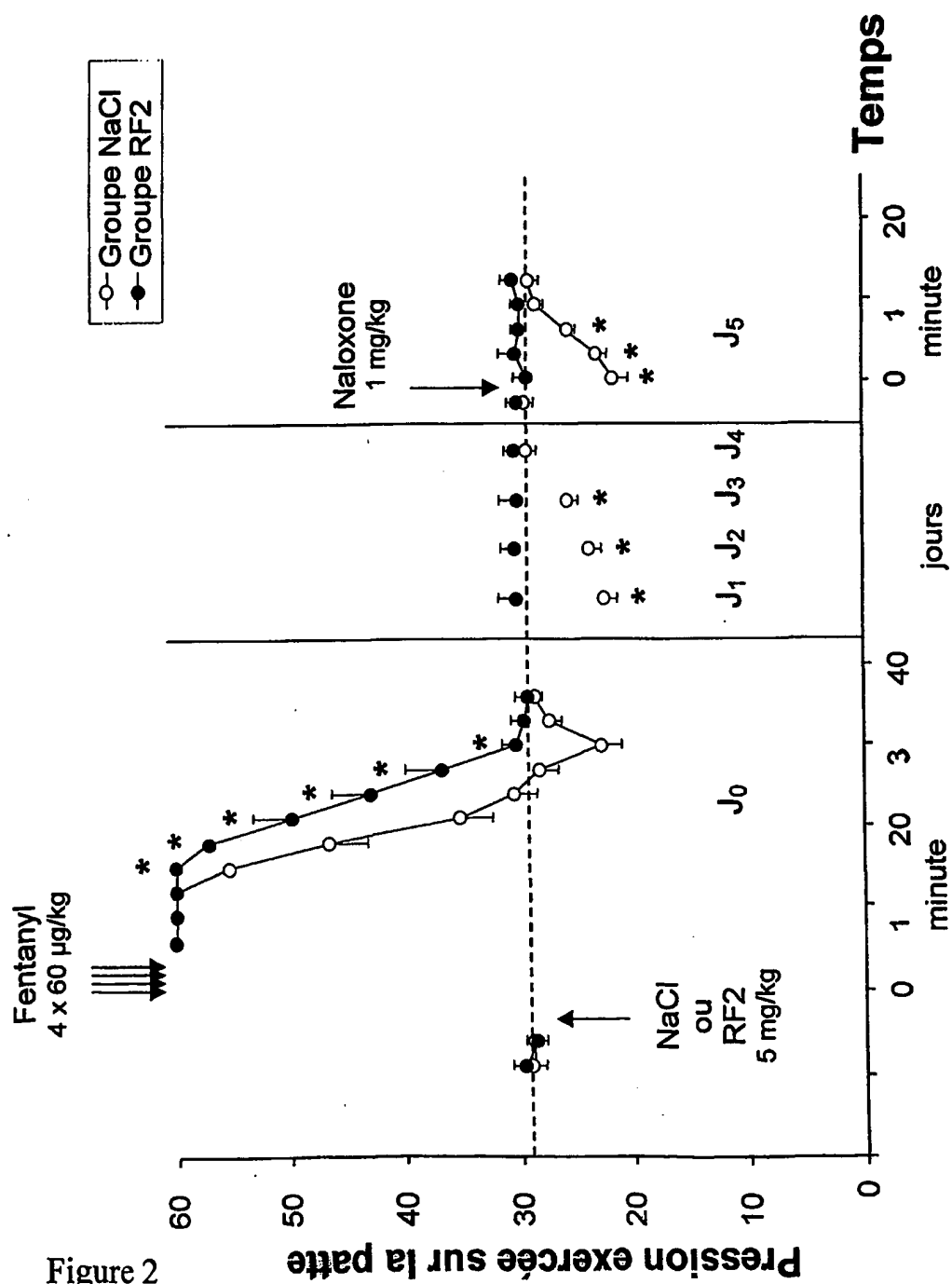


Figure 1



3/12

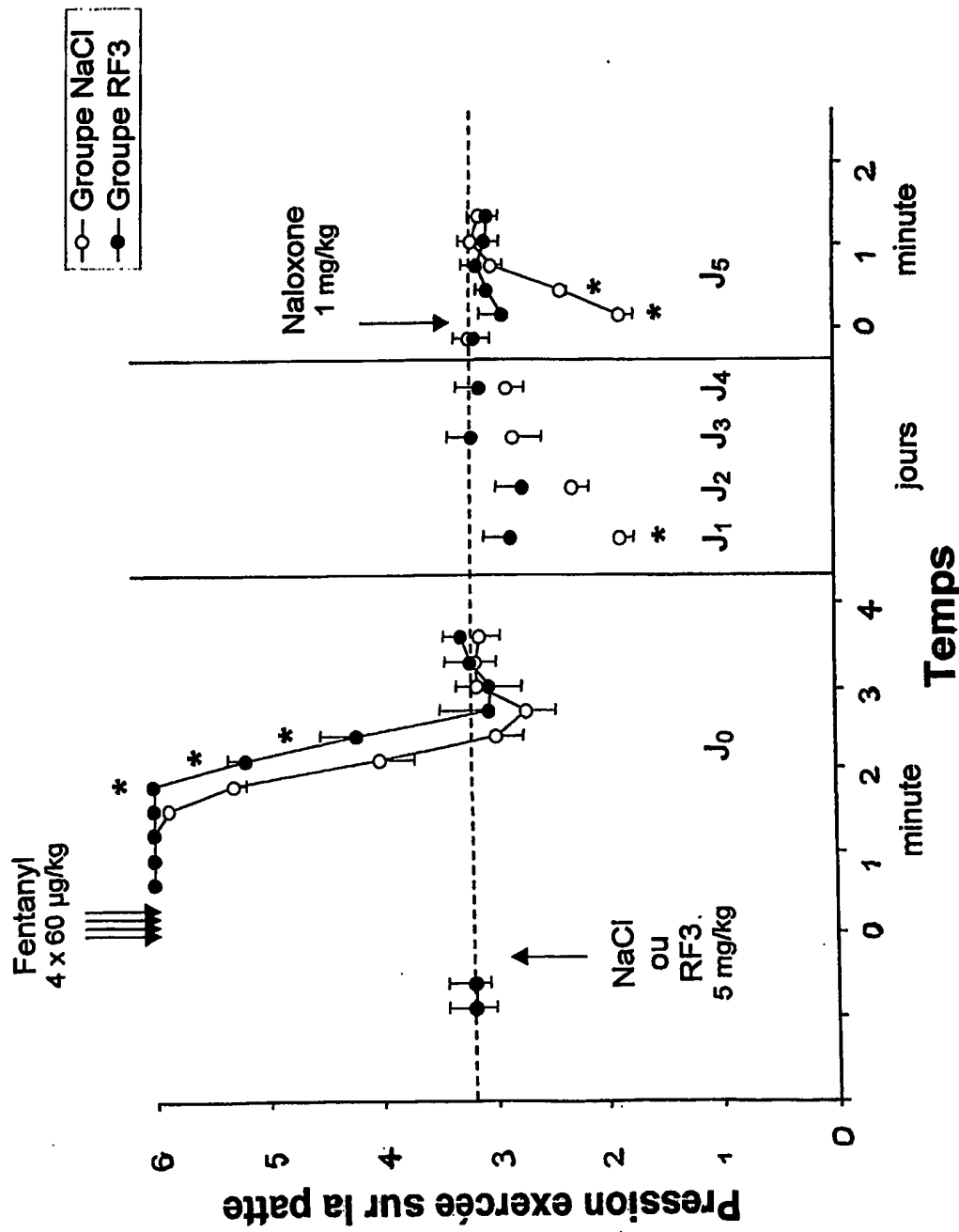


Figure 3

4/12

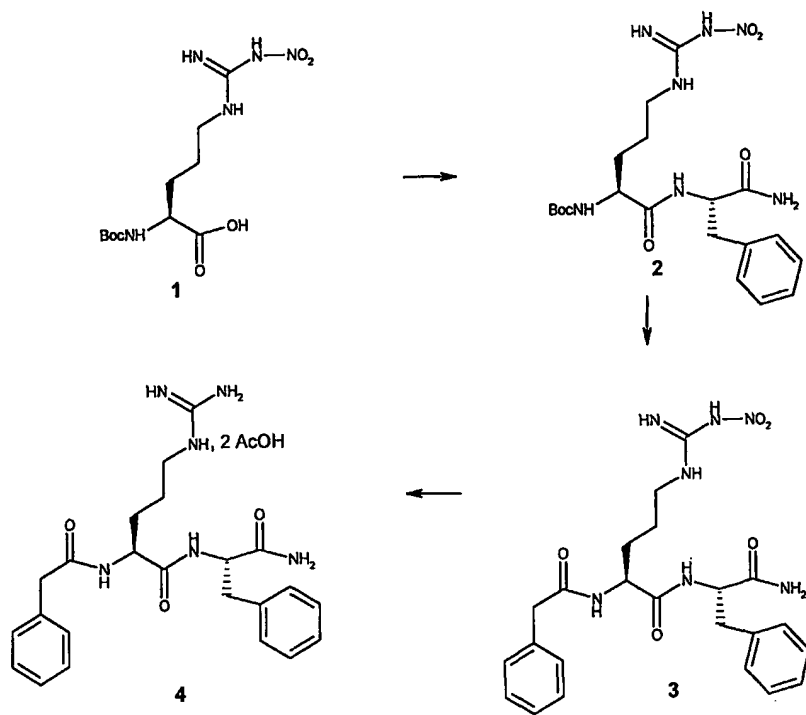


Figure 4

5/12

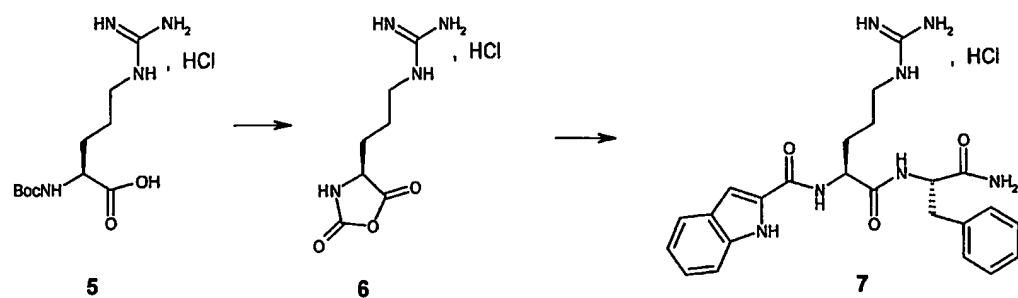


Figure 5

6/12

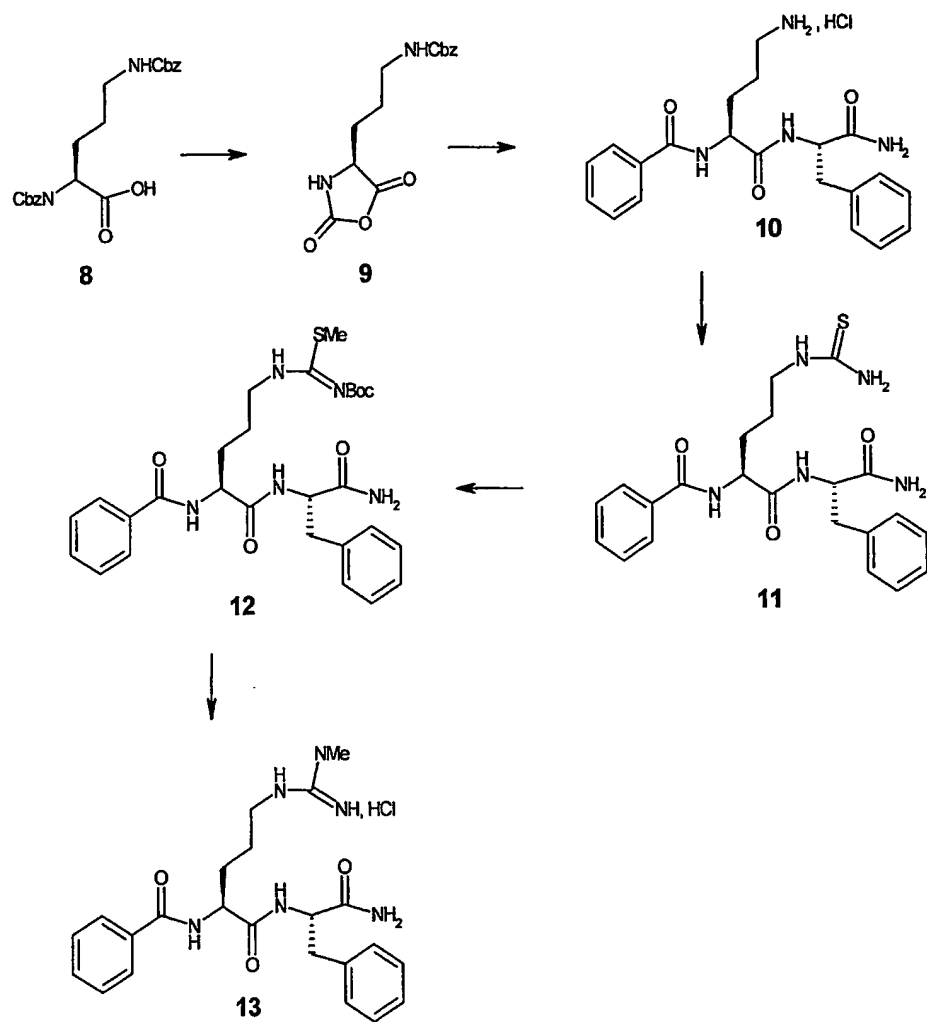


Figure 6

7/12

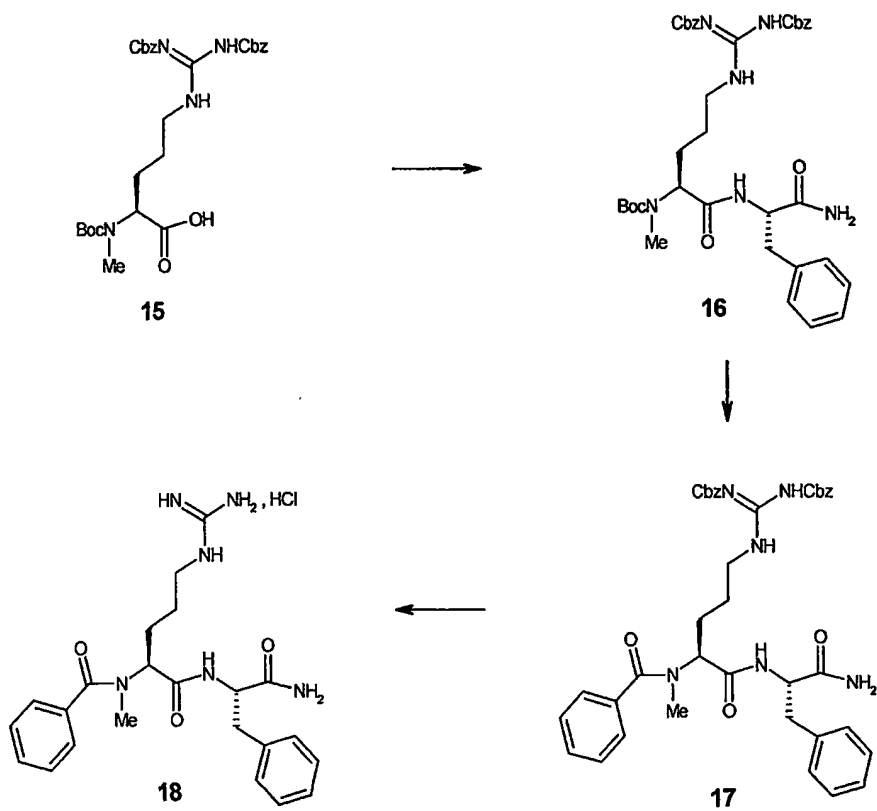


Figure 7

8/12

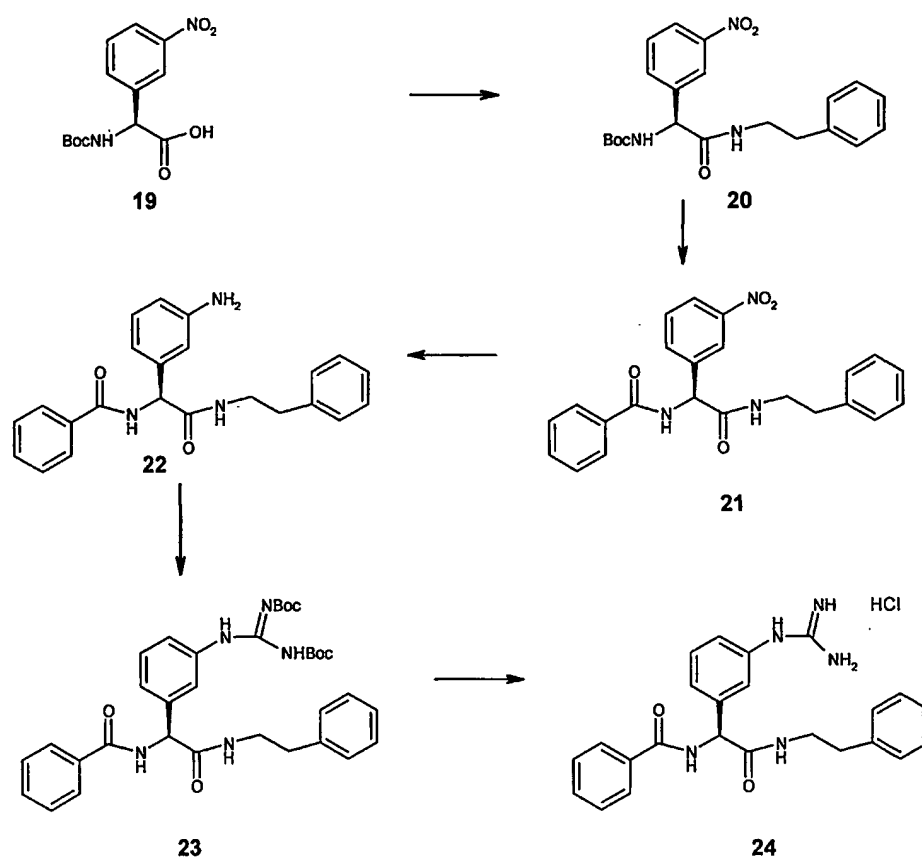


Figure 8

9/12

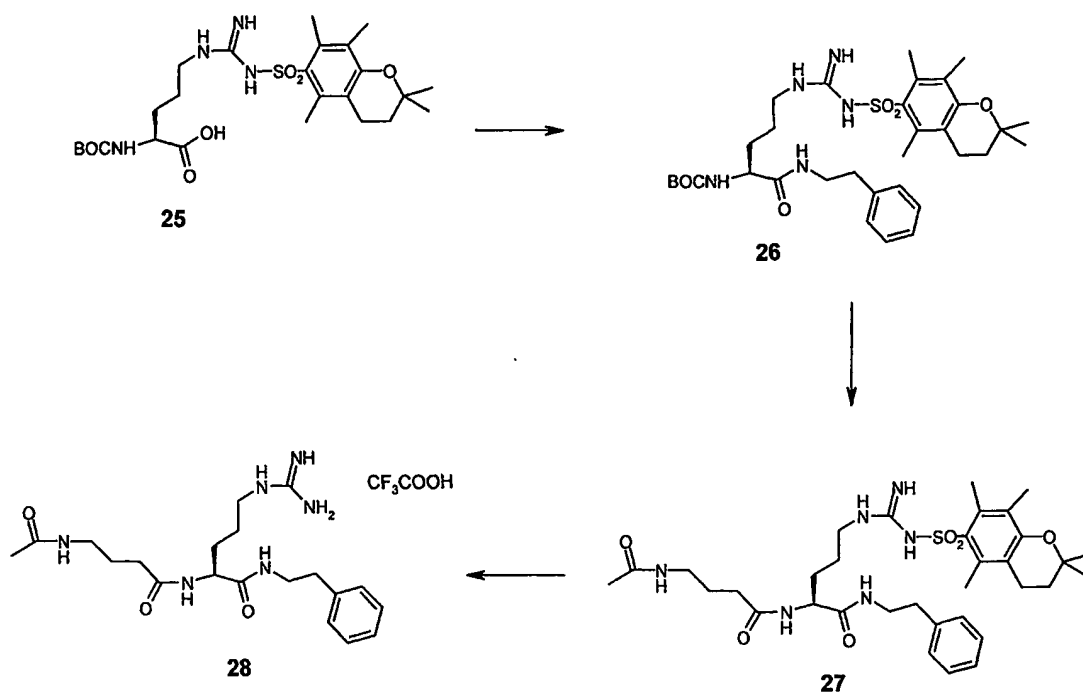


Figure 9

10/12

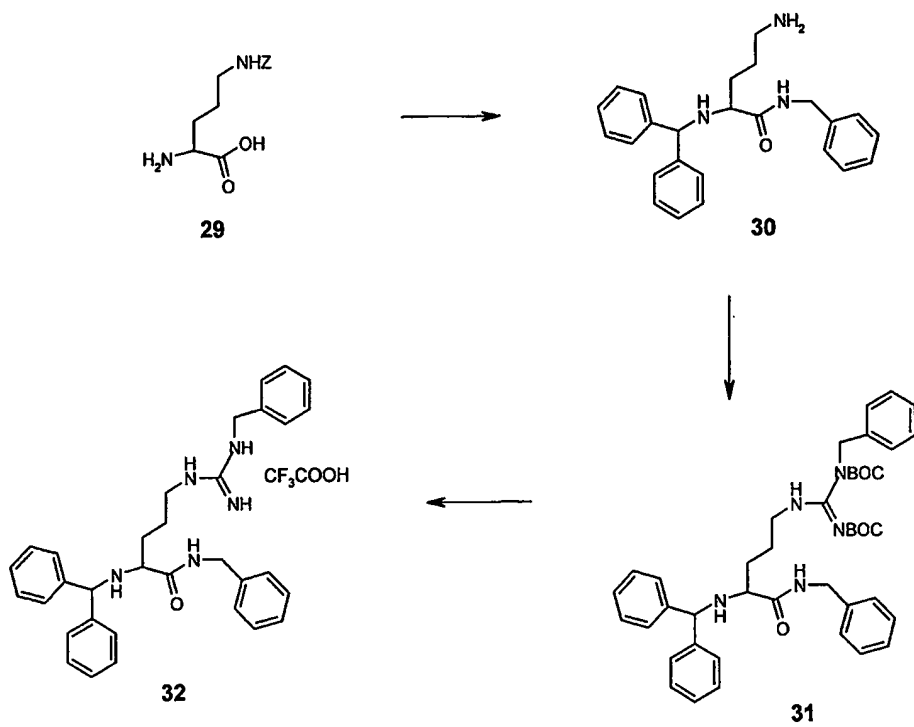


Figure 10

11/12

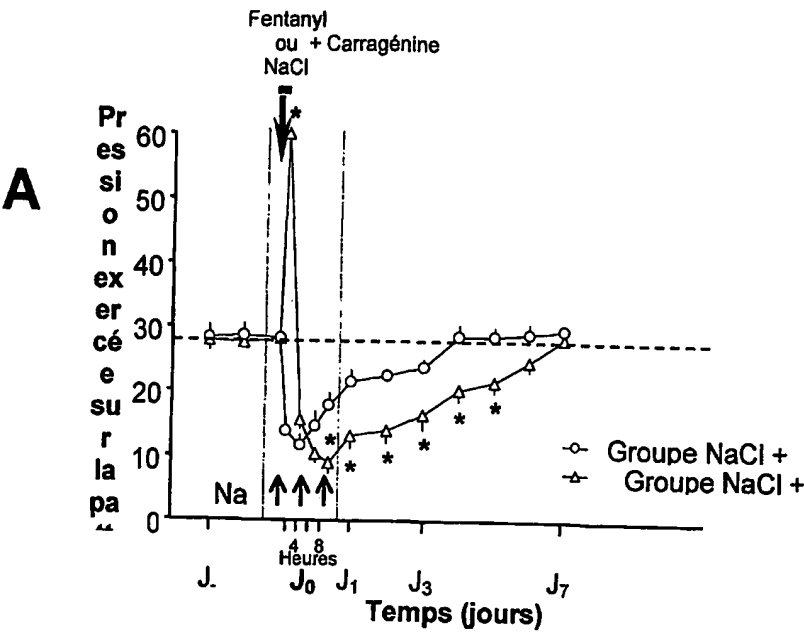


Figure 11A

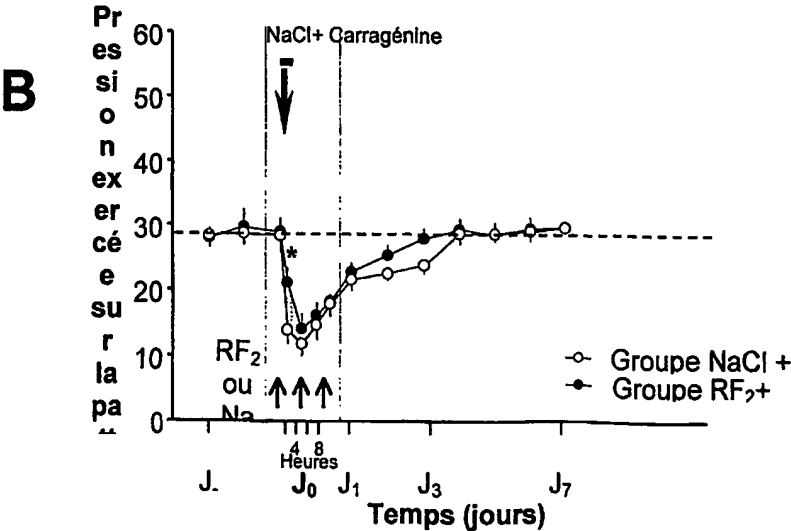


Figure 11B

12/12

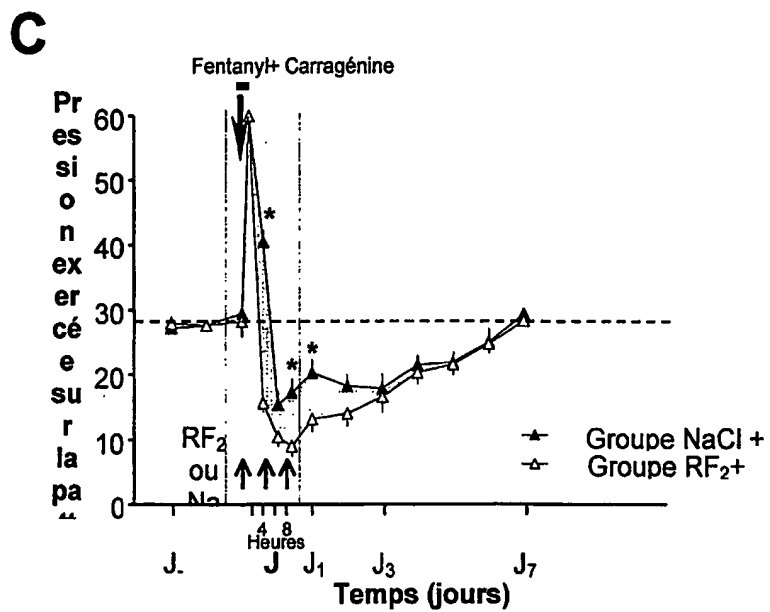


Figure 11C